



**Lara Susete Dias Carvalho**

Licenciada em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

## **Avaliação da qualificação do setor de fabrico de soluções injetáveis de pequeno volume**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Dr.<sup>a</sup> Aldina Valadares, Diretora Farmacêutica, Laboratórios Vitória S.A.

Coorientador: Prof. Mário Eusébio, Professor Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Susana Filipe Barreiros

Arguente: Dr.<sup>a</sup> Carla Palmira Loureiro Rodrigues Lamas

Vogal: Dr.<sup>a</sup> Aldina Maria Ferrão de Carvalho e Sousa Valadares Gomez



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Março, 2016**



Lara Susete Dias Carvalho  
Licenciada em Engenharia Química e Bioquímica

Avaliação da qualificação do setor de fabrico de soluções injetáveis de pequeno volume

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Dr.<sup>a</sup> Aldina Valadares, Diretora Farmacêutica, Laboratórios Vitória S.A.

Coorientador: Prof. Mário Eusébio, Professor Auxiliar, FCT/UNL

Júri:

Presidente: Prof. Doutora Susana Filipe Barreiros

Arguente: Dr.<sup>a</sup> Carla Palmira Loureiro Rodrigues Lamas

Vogal: Dr.<sup>a</sup> Aldina Maria Ferrão de Carvalho e Sousa Valadares Gomez

Março 2016



### **Avaliação da qualificação do setor de fabrico de soluções injetáveis de pequeno volume**

Copyright © Lara Susete Dias Carvalho, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.



**Aos meus pais**





*Education is the most powerful weapon which you can use to change the world.*

*- Nelson Mandela*



# Agradecimentos

Aos Laboratórios Vitória, em particular ao departamento de Engenharia Industrial, Garantia da Qualidade e Controlo da Qualidade, por me ter dado a oportunidade para a realização deste trabalho.

À minha orientadora na empresa, a Doutora Aldina Valadares pela orientação, pela confiança depositada em mim e por me ter proposto este desafio.

Ao meu orientador na faculdade, o Professor Mário Eusébio pela disponibilidade, ajuda e espírito crítico.

Ao Engenheiro Nuno Pereira e à Patrícia Santos pelo apoio, disponibilidade e colaboração.

Aos meus pais e irmã pelo apoio incondicional, força e motivação que me têm dado desde sempre.

Ao Pedro e aos meus sobrinhos, Tiago e Clara, pelo carinho, paciência e ânimo.

Ao Tobias pela compreensão, companheirismo e amor.

Aos meus amigos e colegas da faculdade, por toda a entreaajuda, apoio e carinho durante o meu percurso académico, sem deixar de mencionar a Jessica Viegas, a minha grande amiga e companheira.

A todos aqueles que de certa forma me acompanharam no decorrer do meu trabalho, **Muito Obrigada!**



# Resumo

---

Na indústria farmacêutica, principalmente no fabrico das formas farmacêuticas estéreis, existe controlo, não só do processo de fabrico e produto final, como também de todas as condições processuais de fabrico de forma a cumprir as normas que regulam os medicamentos da União Europeia, as normas orientadoras sobre as boas práticas de fabrico - medicamentos de uso humano e veterinário, as *International Organization for Standardization* e as Farmacopeias.

Esta dissertação está direccionada para a análise da qualificação do setor de soluções injetáveis de pequeno volume da empresa Laboratórios Vitória S.A, sendo esta certificada e auditada pelo INFARMED. Nesta empresa, a requalificação de todas as variáveis do setor de soluções injetáveis foi realizada em 2000 e por isso surgiu a necessidade de realizar uma avaliação do *status* da qualificação através da análise de resultados dos últimos 2 anos, com o intuito de evidenciar todos os pontos críticos do processo e possibilidades de melhoria.

Nesta dissertação procedeu-se à análise de dados históricos de 2 anos relativos às contaminações em determinadas fases do processo e identificação dos microrganismos mais frequentes; à realização de uma auditoria interna e à realização de uma proposta de *layout* para o setor de injetáveis que cumpra com as regras impostas pelas entidades reguladoras da indústria farmacêutica; à análise de risco do *Media Fill* e pontos de amostragem para controlo microbiológico; à identificação do produto “*worst case*”, tanto em produtos de processo assético como em produtos de esterilização final e à realização de cartas de controlo a parâmetros ambientais nas salas críticas.

No final da avaliação da qualificação ao setor de soluções injetáveis verificou-se que este precisa de ações de melhoria, nomeadamente efetuar algumas alterações na sala de filtração, no sistema de Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado (AVAC), no sistema de fecho de portas automático, no aumento de pontos de amostragem para controlo microbiológico, na implementação de intercomunicadores e se possível construir um *layout* mais funcional. Não foi possível tirar conclusões à conformidade dos parâmetros ambientais uma vez que os dados analisados não tinham em consideração as atividades que estavam a decorrer na sala limpa. No entanto, este setor encontra-se em conformidade.

O trabalho desenvolvido ajudou o setor de engenharia industrial e o controlo de qualidade fornecendo dados importantes para melhorar a qualidade do setor de soluções parenterais da empresa.

**Palavras-chave:** Indústria farmacêutica, Injetáveis, Qualificação de Setor, Avaliação da Qualificação.

---



# Abstract

---

In the pharmaceutical industry, especially in the manufacture of sterile pharmaceutical forms, there is manufacturing and final product process control, as well as all procedural conditions of manufacture control in order to comply with the Rules Governing Medicinal Products in the European Union, the EU Guidelines to Good Manufacturing Practice - Medicinal Products for Human and Veterinary Use, the International Organization for Standardization and the Pharmacopoeias.

This work is aimed to analyse the qualification of small volume injectable solutions sector of Laboratórios Vitória S.A., which is certified and audited by INFARMED. In this company the requalification of the injectable solutions sector's variables was held in 2000 and so it arose the need for an assessment of the qualification process status through analysis results of the last 2 years, in order to highlight all the critical points of the process and improvement opportunities.

In this dissertation we proceed to the analysis of historical data of 2 years about the contamination of certain stages of the process and identification of the most common micro-organisms; to an internal audit and the preparation of an alternative layout proposal for the injectable sector be in accordance with the rules imposed by the regulatory authorities of the pharmaceutical industry; risk analysis of Media Fill process and of sampling points for microbiological control; the identification of the product "worst case" both in aseptic process products and in final sterilization's products and the realization of control charts and environmental parameters of the critical areas.

At the end of the evaluation of qualification of injectable solutions sector it was found that it needs improvement actions, including making some changes mainly in the filtration room, the Heating, Ventilation and Air Conditioning (HVAC), the sealing system automatic doors, the increase of sampling points for microbiological control, the implementation of intercom and build a more functional alternative layout. It was not possible to draw conclusions on compliance of environmental parameters because the analyzed data did not take into account the activities that were taking place in the cleanroom. However, this sector is in compliance.

This work helped the industrial engineering team and the quality control team providing important data to improve the quality of parenteral solutions company's sector.

**Keywords:** Pharmaceutical Industry, Injectables, Sector Qualification, Qualification Evaluation.

---





# Índice

<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1 Enquadramento e Motivação.....	1
1.2 Indústria Farmacêutica.....	2
1.3 Laboratórios Vitória S.A. ....	3
1.4 Normas e Diretrizes .....	5
1.5 Soluções Injetáveis de Pequeno Volume .....	6
1.6 Estrutura da Dissertação.....	7
<b>2. Qualificação de um Setor de Fabrico .....</b>	<b>9</b>
2.1 Qualificação da Instalação .....	10
2.2 Qualificação da Operação.....	11
2.3 Qualificação de Desempenho .....	11
2.4 Classificação das Salas Limpas .....	12
2.5 Setor de Injetáveis .....	13
2.6 Classificação de Partículas .....	16
2.7 Microrganismos.....	18
2.8 Meios de Cultura .....	19
2.9 Sistemas de Suporte e utilidades .....	20
2.9.1 Sistemas de Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado .....	21
2.9.2 Água .....	23
2.10 Processo de Fabrico de Produtos Estéreis.....	26
2.10.1 Esterilização.....	27
2.11 Media Fill.....	29
2.12 Controlo Estatístico do Processo .....	31
2.12.1 Cartas de Controlo .....	31
2.12.2 Índices da Capacidade do Processo .....	33
2.13 Análise de Risco na Indústria Farmacêutica.....	35
2.13.1 Análise de Modo de Falha e Efeito.....	35
2.13.2 Estudo de Perigos Operacionais .....	37
2.13.3 Análise de Árvore de Falha .....	38
2.13.4 Análise de Perigos e Controlos de Pontos Críticos .....	38
<b>3. Metodologia .....</b>	<b>41</b>
3.1 Classificação das Salas Limpas .....	41
3.2 Controlo Microbiológico no Setor de Soluções Injetáveis .....	42
3.2.1 Controlo Microbiológico do Ar .....	42

3.2.2	Controlo Microbiológico de Superfícies .....	43
3.2.3	Controlo Microbiológico de Impressão de luva .....	43
3.3	Promoção e Inibição de Crescimento de Microrganismos .....	44
3.4	Auditoria Interna ao Setor de Injetáveis.....	46
3.5	Análise de Risco do Processo.....	46
3.5.1	Análise de Risco de <i>Media Fill</i> .....	47
3.5.2	Análise de Risco de Pontos de Amostragem.....	48
3.6	Produto <i>Worst Case</i> .....	49
3.7	Controlo Estatístico do Processo .....	50
<b>4.</b>	<b>Resultados e Discussão.....</b>	<b>53</b>
4.1	Classificação das Salas Limpas .....	53
4.2	Controlo Microbiológico.....	54
4.2.1	Análise de contaminações em diferentes fases de fabrico .....	54
4.2.2	Análise de contaminações através da identificação de microrganismos..	57
4.3	Auditoria Interna ao Setor de Injetáveis.....	63
4.4	Proposta de um <i>Layout</i> no Setor de Injetáveis .....	65
4.5	Análise de Risco do <i>Media Fill</i> .....	66
4.6	Análise de Risco de Pontos de Amostragem.....	70
4.7	Produto <i>Worst Case</i> .....	71
4.7.1	Esterilização Final .....	72
4.7.2	Processo Assético.....	75
4.8	Cartas de Controlo de Parâmetros Ambientais.....	76
4.8.1	Sala de Preparação .....	76
4.8.2	Sala de Filtração .....	79
4.8.3	Sala de Enchimento .....	81
<b>5.</b>	<b>Conclusões e Trabalhos Futuros .....</b>	<b>85</b>
<b>6.</b>	<b>Referências Bibliográficas.....</b>	<b>87</b>
<b>Anexos</b>	<b>.....</b>	<b>91</b>
A.1	Esquema de funcionamento de uma ETA .....	93
A.2	Fatores para construção de Cartas de Controlo de variáveis .....	95
A.3	Controlo Microbiológico.....	97
A.4	Auditoria Interna - Check List .....	101
A.5	Análise de Risco de Pontos de Amostragem.....	119
A.6	Cartas de Controlo .....	121

## Índice de Tabelas

Tabela 2.1 - Classificação das salas limpas em diferentes entidades reguladoras.....	13
Tabela 2.2 – Tipo de vestuário correspondente à classificação das salas limpas. ....	15
Tabela 2.3 - Classificação de partículas não viáveis. ....	16
Tabela 2.4 - Limites de monitorização microbiológica de salas limpas. ....	17
Tabela 2.5 - Espécie de alguns microrganismos .....	19
Tabela 2.6 - Meios de cultura e as suas características .....	20
Tabela 2.7 - Promoção e Inibição de crescimento de microrganismos em meios de cultura .....	21
Tabela 2.8 - Fases de pré-tratamento de água.....	24
Tabela 2.9 - Especificações da água de rede. ....	24
Tabela 2.10 - Especificações da água purificada e da água para preparações de injetáveis. ....	25
Tabela 2.11 - Combinações de temperatura, pressão e tempo para a esterilização por calor húmido	29
Tabela 2.12 - Combinações de temperatura e tempo para a esterilização por calor seco. ....	29
Tabela 2.13 - Tipos de cartas de controlo.....	32
Tabela 2.14 - Resumo dos limites das cartas de controlo de variáveis – parâmetro do processo.....	33
Tabela 2.15 - Interpretação face aos índices de capacidade de processo.....	34
Tabela 2.16 - Classificação típica para severidade, ocorrência e deteção.....	35
Tabela 2.17 - Escala de severidade .....	36
Tabela 2.18 - Escala de probabilidade de ocorrência .....	36
Tabela 2.19 - Escala de capacidade de detenção .....	36
Tabela 2.20 - Resumo de FMEA.....	37
Tabela 2.21 - Resumo HAZOP.....	38
Tabela 2.22 - Resumo FTA .....	38
Tabela 2.23 - Resumo HACCP .....	39
Tabela 3.1 - Promoção e inibição de crescimento do meio de cultura TSA, Cet e VRBA.....	44
Tabela 3.2 - Severidade - descrição e peso.....	47
Tabela 3.3 - Ocorrência - descrição e peso. ....	47
Tabela 3.4 - Deteção - descrição e peso. ....	47
Tabela 3.5 - Intervalos dos valores de NPR e o tipo de ação associado. ....	48
Tabela 3.6 - Descrição do peso do Fator de Risco. ....	48

Tabela 3.7 - Descrição do peso das Classes de Salas Limpas. ....	49
Tabela 3.8 - Valor do Índice de Criticidade em relação ao risco de contaminação. ....	49
Tabela 3.9 - Limites de controlo das cartas de controlo escolhidas. ....	50
Tabela 4.1 - Dados históricos de classificação de salas limpas dentro da zona crítica. ....	53
Tabela 4.2 - Dados históricos de classificação de salas limpas dentro da zona não crítica. ....	54
Tabela 4.3 - Origem dos microrganismos. ....	59
Tabela 4.4 - Comparação da frequência de microrganismos no controlo microbiológico do ar em 2014 e 2015. ....	59
Tabela 4.5 - Identificação da origem e patogenicidade dos microrganismos das amostragens de controlo microbiológico do ar. ....	60
Tabela 4.6 - Comparação da frequência de microrganismos no controlo microbiológico das superfícies em 2014 e 2015. ....	60
Tabela 4.7 - Identificação da origem e patogenicidade dos microrganismos das amostragens de controlo microbiológico de superfícies. ....	61
Tabela 4.8 - Comparação da frequência de microrganismos no controlo microbiológico da impressão de luvas (vestiário) em 2014 e 2015. ....	61
Tabela 4.9 - Identificação da origem e patogenicidade dos microrganismos das amostragens de controlo microbiológico das impressões de luvas (vestuário). ....	62
Tabela 4.10 - Identificação dos tópicos com problemáticas sujeitas a melhorias. ....	63
Tabela 4.11 - Potenciais não conformidades do setor de injetável (ações de melhoria) ....	64
Tabela 4.12 - Análise de risco do <i>Media Fill</i> na fase de preparação. ....	66
Tabela 4.13 - Análise de risco do <i>Media Fill</i> na fase de filtração. ....	67
Tabela 4.14 - Análise de risco do <i>Media Fill</i> na fase de enchimento. ....	68
Tabela 4.15 - Análise de risco do <i>Media Fill</i> na lavagem e despirogenização de ampolas. ....	69
Tabela 4.16 - Análise de risco do <i>Media Fill</i> na fase de verificação de ampolas. ....	69
Tabela 4.17 - Comparação dos pontos de amostragem existentes na empresa com a análise de risco realizada. ....	70
Tabela 4.18 - Comparação de produtos de esterilização final. ....	72
Tabela 4.19 - Continuação da comparação de produto de esterilização final. ....	73
Tabela 4.20 - Continuação da comparação de produto de esterilização final. ....	74
Tabela 4.21 - Comparação de produto de processo assético ....	75
Tabela 4.22 - Síntese de parâmetros ambientais na sala de preparação. ....	76
Tabela 4.23 - Capacidade do processo de pressão. ....	77
Tabela 4.24 - Capacidade do processo de temperatura. ....	79

Tabela 4.25 - Síntese de parâmetros ambientais na sala de filtração. ....	79
Tabela 4.26 - Síntese de parâmetros ambientais na sala de enchimento. ....	81
Tabela 4.27 - Capacidade do processo de temperatura. ....	83



# Índice de Figuras

Figura 1.1 - Planta das instalações da empresa Laboratórios Vitória S.A.....	3
Figura 1.2 - Volume de produção de formas farmacêuticas em 2014 .....	4
Figura 2.1 - Modelo de validação de processo .....	10
Figura 2.2 - Planta do setor de injetáveis dos Laboratórios Vitória. ....	14
Figura 3.1 - Método de amostragem de impressão de luva.....	44
Figura 3.2 - Teste de promoção e inibição de crescimento de microrganismos no meio TSA.....	45
Figura 3.3 - Teste de promoção e inibição de crescimento de microrganismos no meio Cet e VRBA. ....	45
Figura 3.4 - Fluxograma do processo Media Fill .....	46
Figura 4.1 - Comparação de valores entre 2014 e 2015 da amostragem do controlo microbiológico do ar.....	55
Figura 4.2 - Comparação de valores entre 2014 e 2015 da amostragem do controlo microbiológico das superfícies. ....	55
Figura 4.3 - Comparação de valores entre 2014 e 2015 das amostragens do controlo microbiológico de impressões de luvas (vestiário). ....	56
Figura 4.4 - Diagrama de Pareto dos microrganismos nas amostragens totais. ....	57
Figura 4.5 - Patogenicidade dos microrganismos nas amostragens totais. ....	58
Figura 4.6 - Origem dos microrganismos nas amostragens totais.....	58
Figura 4.7 - Diagrama de causa e efeito para a contaminação do processo de produção. ....	62
Figura 4.8 - Possibilidade de <i>layout</i> do setor com implementações de melhoria. ....	65
Figura 4.9 - Carta de controlo final da média de pressão. ....	77
Figura 4.10 - Carta de controlo final do desvio padrão de pressão. ....	77
Figura 4.11 - Histograma da humidade relativa (%) .....	78
Figura 4.12 - Carta de controlo final da média de temperatura .....	78
Figura 4.13 - Carta de controlo final do desvio padrão de temperatura .....	78
Figura 4.14 - Histograma de pressão (Pa) .....	80
Figura 4.15 - Histograma de humidade relativa (%) .....	80
Figura 4.16 - Histograma de temperatura (°C).....	81
Figura 4.17 - Histograma de pressão (Pa) .....	82
Figura 4.18 - Histograma de humidade Relativa (%) .....	82
Figura 4.19 - Carta de controlo final da média de temperatura. ....	83

Figura 4.20 - Carta de controlo final do desvio padrão de temperatura. ....	83
---	----



# Lista de Abreviaturas e Siglas

APA - Área de Processamento Assético

API - *Active pharmaceutical ingredient*

AVAC - Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado

BPF - Boas Práticas de Fabrico

CEP - Controlo Estatístico do Processo

Cp - Índice da Capacidade do Processo

Cpk - Índice da Capacidade do Processo unilateral

EMA - *European Medicines Agency*

ETA - Estação de Tratamento de Águas

FDA - *Food and Drug Administration*

FMEA - Análise de Modos de Falha e Efeito

FMECA - Análise dos Modos de Falha, Efeitos e Criticidade

FTA - Análise de Árvore de Falha

HACCP - Análise de Perigos e Controlos de Pontos Críticos

HAZOP - Estudo de Perigos Operacionais

HEPA - *High Efficiency Particulate Air*

HMR - *Health Market Research*

HR - Humidade relativa

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

LIE – Limite Inferior de Especificação

LSE – Limite Superior de Especificação

NPR - Número de Prioridade de Risco

PPI - Para Preparações de Injetáveis

P&ID - Diagrama de Tubulação e Instrumentação

PUR - Purificada

PVC - Cloreto de polivinilo

QD - Qualificação do Desempenho

QI - Qualificação da Instalação

QO - Qualificação da Operação

T - Temperatura

TSA - *Tryptic Soy Agar*

TSB - *Tryptic Soy Broth*

UTA - Estação de Tratamento de Ar

WHO - Organização Mundial de Saúde

# Introdução

## 1.1 Enquadramento e Motivação

Esta dissertação tem como base a avaliação do *status* da qualificação de um setor de fabrico numa empresa farmacêutica, os Laboratórios Vitória S.A, nomeadamente verificar a conformidade do setor, através da análise de dados históricos e da realização de uma auditoria interna.

No decorrer dos anos, a necessidade de produção de medicamentos tem vindo a aumentar, uma vez que existe uma crescente variedade de produtos farmacêuticos de acordo com os seus fins terapêuticos. A produção de medicamentos tem vindo a ser aperfeiçoada, o que origina uma enorme necessidade de qualificar as zonas críticas da produção de medicamentos estéreis. Nestas zonas é necessário controlar o ambiente e validar o processo de forma a obter produtos que cumprem as especificações e qualidades desejadas. Como se trata de produtos farmacêuticos é importante avaliar a presença, quantificar e identificar as partículas viáveis (microrganismos) e não viáveis [1].

O fabrico de produtos estéreis requer um elevado controlo de determinados requisitos de forma a minimizar o risco da contaminação microbiológica e em particular a contaminação por endotoxinas. Os produtos fabricados no setor de injetáveis são preparações parentéricas para uso humano, ou seja são preparações estéreis de soluções aquosas destinadas a serem injetadas, perfundidas ou implantadas no corpo humano.

Segundo a *Food and Drug Administration*, a validação do processo de fabrico está dividida em três fases: o projeto do processo, a qualificação do processo e a verificação do processo [2]. Contudo, esta dissertação está direcionada para a análise e verificação da qualificação do setor de fabrico de soluções injetáveis.

Na empresa, a requalificação a todas as variáveis do setor de soluções injetáveis foi realizada em 2000, nomeadamente a qualificação de uma nova linha de água e de novos equipamentos. No entanto, no decorrer dos anos, foram realizadas todas as requalificações necessárias para que este setor cumpra todos os requisitos para a produção de soluções injetáveis. Assim, para verificar que o setor se encontra em conformidade foi necessário proceder a uma avaliação da qualificação através da análise de resultados dos últimos 2 anos.

Esta dissertação consiste em avaliar a qualificação de forma a garantir a qualidade e identificar os pontos críticos e/ou oportunidades de melhoria no setor de injetáveis. Em seguida descreve-se os objetivos a realizar nesta dissertação:

- Análise de dados históricos relativamente às contaminações em determinadas fases do processo e identificação dos microrganismos mais frequentes;
- Breve auditoria interna de modo a identificar algumas situações que possam ser melhoradas;
- Novo *layout* do setor como oportunidade de melhoria;

- Análise de riscos ao processo de *Media Fill* e pontos de amostragem para controlo microbiológico;
- Identificação dos produtos *worst case*<sup>1</sup>, tanto no processo assético como na esterilização final;
- Cartas de controlo de parâmetros ambientais nas salas críticas ao processo (pressão, humidade relativa e temperatura).

## 1.2 Indústria Farmacêutica

A indústria farmacêutica teve início entre o final do século XIX e início do século XX com o intuito de produzir vários medicamentos inovadores e desenvolver fórmulas terapêuticas para atender às necessidades de diversos tratamentos. A indústria farmacêutica é responsável pela investigação, desenvolvimento, produção, comercialização e distribuição de forma a ajudar na melhoria da saúde e qualidade de vida das pessoas. Assim, há uma grande necessidade de produzir medicamentos com qualidade, segurança e eficácia elevada [3].

O aumento da qualidade de vida, o envelhecimento da população, a resistência crescente das infeções aos medicamentos e o aumento das despesas públicas dos produtos farmacêuticos, posicionam a indústria farmacêutica num nível elevado na economia mundial. Assim, esta indústria tem conseguido manter a responsabilidade, ao contribuir para que ocorra uma melhoria no processo e na investigação para permitir um aumento global no bem-estar da humanidade, tanto pelo aperfeiçoamento da vida quotidiana como da saúde das populações [4].

A indústria farmacêutica é considerada um setor estratégico de elevada incorporação tecnológica e de inovação, o desenvolvimento da sua atividade está ao alcance de economias que preencham os requisitos culturais inerentes a um setor de alto posicionamento na cadeia de valor da economia [4].

Em Portugal, a Companhia Portuguesa Higiene surgiu em 1891 como a primeira a implementar o fabrico de grânulos dosimétricos e em 1893 iniciou a produção de medicamentos. Os laboratórios da Farmácia Freire de Andrade surgiram em 1894 com a implementação da preparação de injetáveis em ampolas de vidro [5].

O grande desenvolvimento da indústria farmacêutica ocorreu, na época de proteção aduaneira, com a competitividade na produção local sustentada pelos impostos elevados sobre as importações [4].

Posteriormente, no período de mercado interno europeu de livre circulação, a produção farmacêutica conseguiu adotar e resistir à concorrência europeia, havendo um desenvolvimento no mercado interno e um crescimento das exportações portuguesas de produtos farmacêuticos em relação às exportações de diversos países. Assim, surgiu um aumento da economia portuguesa que está fortemente relacionado com o crescimento das exportações [4].

Em 2014, Portugal, em mercado farmacêutico atingiu um valor de 3.388 milhões de euros, com uma produção farmacêutica de 1.486 milhões de euros, com 877 milhões de euros em exportações e 2.173 milhões de euros de importações de matérias-primas e produtos farmacêuticos [6].

---

<sup>1</sup> *Worst case* – projeta ou prevê as piores circunstâncias e resultados numa determinada situação.

Em Portugal existem cinco indústrias farmacêuticas que produzem soluções parentais de pequeno volume: HIKMA Farmacêutica S.A, Fresenius Kabi Pharma Portugal Lda., Recipharm, Sofarimex - Indústria Química e Farmacêutica, Lda. e Laboratórios Vitória S.A. [7].

### 1.3 Laboratórios Vitória S.A.

Os Laboratórios Vitória são uma empresa portuguesa localizada na Amadora, pertencente ao Grupo FAES FARMA, e são considerados uma referência do setor no mercado nacional com um posicionamento consolidado e competitivo. Esta empresa concentra a sua atividade no fabrico e comercialização de medicamentos garantindo elevados padrões de rigor e qualidade, fruto de décadas de experiência [8].

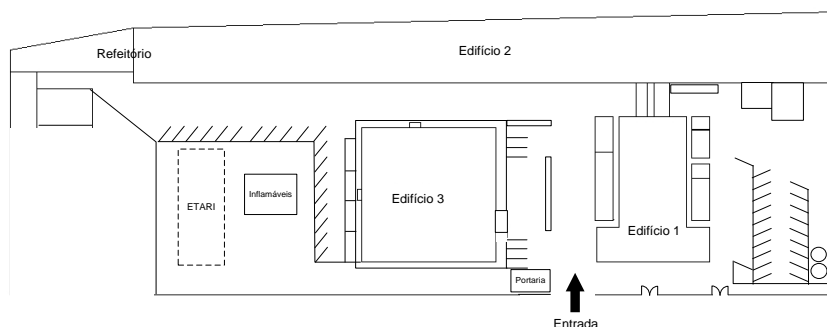
A FAES FARMA é uma empresa farmacêutica fundada em 1933 em Espanha, que pesquisa, fabrica e comercializa produtos farmacêuticos e matérias-primas, exportando para mais de 60 países. A sede localiza-se em Madrid, a fábrica, a pesquisa, desenvolvimento e inovação em Leioa (Vizcaya) [9].

Os Laboratórios Vitória são uma empresa constituída em 7 de maio de 1941, sob a forma de sociedade comercial por quotas de responsabilidade limitada, com o capital social de 180 000 escudos, constituído por duas quotas, uma de 90 000 Esc. pertencente a Paulo Barros e outra de igual valor pertencente a Don Juan Guinea. Posteriormente, através de diversas deliberações, o seu capital social foi aumentado e alterada a sua forma jurídica para sociedade anónima. Atualmente o capital social da Empresa é de 750 000 euros, representado por 125 000 ações, no valor nominal de 6 euros [10].

Em 1993, após cerca de 50 anos de atividade no mercado português, os Laboratórios Vitória atingiram vendas de 15 milhões de euros, atingindo os 40 milhões de euros em 2009. Em 2014 o volume de negócio foi de 38 milhões de euros [10].

Em Portugal, apesar da retração do mercado farmacêutico, os Laboratórios Vitória com a sua estratégia de diversificação, têm conseguido aumentar a posição no mercado, sendo, atualmente, a 22.<sup>a</sup> empresa em valor de vendas e a 17.<sup>a</sup> em unidades (HMR, acumulado a agosto 2015) [10].

As instalações fabris dos Laboratórios Vitória são constituídas por uma área total de 8572 m<sup>2</sup>, com cerca de 38% direcionada para a área produtiva, 34% para a área de armazenagem e 28% para as restantes áreas (administrativa, controlo da qualidade, garantia da qualidade entre outros) [10]. Na Figura 1.1 é possível visualizar a planta das instalações da empresa.

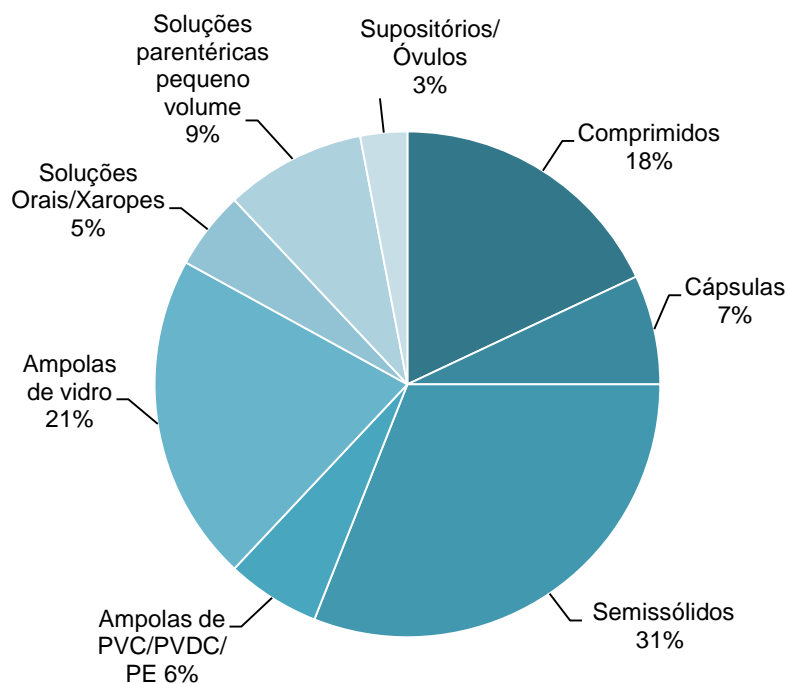


**Figura 1.1 - Planta das instalações da empresa Laboratórios Vitória S.A. [10].**

Atualmente, os Laboratórios Vitória são constituídos por 140 colaboradores, distribuídos pela área produtiva, administrativa e comercial, onde trabalham pessoas especializadas no fabrico, controlo e garantia da qualidade e comercialização de diferentes formas farmacêuticas; a área fabril, com técnicos farmacêuticos que asseguram a qualidade dos produtos, desde as matérias-primas ao produto acabado; a área comercial com delegados de informação médica, técnicos de *marketing*, gestores de produto, área regulamentar e médica e a área administrativo-financeira [10].

A unidade industrial tem mantido o volume de produção nos últimos anos, produzindo em 2014 9.389.001 unidades. O Grupo FAES FARMA, segundo uma estratégia racionalizada por forma farmacêutica e dimensão de lote, aposta na produção nos Laboratórios Vitória constituindo atualmente a produção para a FAES FARMA, cerca de 53% do total de unidades produzidas, seguida da produção própria correspondente ao portefólio dos medicamentos dos Laboratórios Vitória com 33% e a produção para terceiros com cerca de 14% [10].

A repartição do volume de produção em 2014 por tecnologia de fabrico e/ou forma farmacêutica pela Laboratórios Vitória S.A. é a indicada na Figura 1.2 [10].



**Figura 1.2 - Volume de produção de formas farmacêuticas em 2014 [10].**

Os Laboratórios Vitória permitem o fabrico de várias formas farmacêuticas - sólidas, líquidas e semissólidas. Estas formas farmacêuticas incluem comprimidos e cápsulas, soluções orais repartidas em dois tipos de acondicionamento: frasco e ampola, soluções injetáveis de pequeno volume, supositórios, óvulos, pomadas, geles e cremes [10].

Destacam-se cinco marcas de produtos comercializados pelos Laboratórios Vitória com maior influência: ZYLORIC – sistema locomotor; TUROX – sistema locomotor; BILAXTEN – antialérgica; ABSTRAL – sistema nervoso central e MAGNESONA – nutrição e metabolismo [10].

## 1.4 Normas e Diretrizes

A Indústria Farmacêutica é muito regulamentada, em que todas as atividades têm de obedecer a normas internacionalmente estabelecidas para que os seus medicamentos possam ser comercializados.

Com o objetivo de regulamentar, informar e uniformizar todos os procedimentos e técnicas que intervêm no processo de produção de medicamentos, surgiram normas e diretrizes, em constante atualização. Estas servem de guias aos procedimentos usados na produção de forma a obter-se um produto final seguro, eficaz e de qualidade [11].

A Farmacopeia Portuguesa, a Farmacopeia Americana (USP), a Farmacopeia Europeia, as Boas Práticas de Fabrico e as *ISO - International Organization for Standardization* são algumas das normativas que regularizam a indústria farmacêutica [11].

Em Portugal, através do Instituto Português da Qualidade, é importante seguir as *International Organization for Standardization* (ISO), normas internacionais estabelecidas por um conjunto de países, uma vez que também Portugal contribuiu para a implementação dessas mesmas normas. Uma das principais referências na produção de produtos estéreis são as “GMP Guidelines - EudraLex Volume 4” [11].

As Boas Práticas de Fabrico (BPF) constituem uma parte do sistema de controlo da qualidade dos medicamentos de acordo com a sua especificação e padrões de qualidade apropriado para a sua utilização [12].

Os medicamentos que não tenham sido produzidos de acordo com as BPF são considerados não conformes e não são autorizados a entrar no mercado. As BPF representam os padrões mínimos necessários para que os medicamentos produzidos possam obter autorizações para serem comercializados [13].

Para cumprir as Boas Práticas de Fabrico de medicamentos é necessário que [13]:

- Todos os processos de fabricação sejam claramente definidos e sistematicamente revistos de forma a fabricar produtos com a qualidade exigida e que cumpram com as suas especificações;
- Os operadores sejam devidamente formados e qualificados;
- As instalações, equipamentos e serviços sejam adequados;
- Os materiais, recipientes e rótulos sejam os corretos;
- Os procedimentos e instruções de fabrico sejam aprovados de acordo com o sistema de qualidade farmacêutica;
- O armazenamento e transporte sejam adequados;
- Os desvios significativos sejam integralmente registados e investigados com o objetivo de determinar a causa e quais as medidas de correção preventivas apropriadas a ser implementadas;
- A distribuição dos produtos minimize qualquer risco para a sua qualidade e tenha em conta as boas práticas de distribuição.

As BPF pretendem diminuir todos os riscos, tais como a contaminação cruzada, a contaminação por partículas, a mistura de produtos, entre outros [14].

A contaminação cruzada de produtos influencia a qualidade do fármaco e por isso deve ser evitada através do *design* das instalações e equipamentos. As medidas para evitar a contaminação

cruzada devem ser proporcionais aos riscos. A análise de gestão de risco deve ser usada para avaliar e controlar os riscos [15].

As instalações utilizadas para o fabrico de um medicamento estéril estão num ambiente controlado de forma a evitar os riscos de contaminação. Os riscos podem não ser adequadamente controlados através de medidas operacionais e por isso as instalações devem ser dispostas de tal forma a permitir que a produção ocorra em áreas ligadas numa ordem lógica correspondente à sequência das operações e aos níveis de limpeza necessários [15].

Para se conseguir garantir que todas as instalações e equipamentos estão conforme o esperado, as BPF referem alguns pontos que devem ser cumpridos tais como [15]:

- As operações de manutenção e de reparação não devem apresentar qualquer tipo de risco para a qualidade dos medicamentos;
- Os equipamentos devem ser instalados de forma a serem limpos facilmente para que se possa minimizar o risco de contaminação cruzada;
- As partes do equipamento utilizado que possam entrar em contacto com o produto não devem ser reativas;
- Todos os equipamentos de medição devem ser calibrados com alguma periodicidade e as tubagens fixas existentes devem estar com identificação do composto que passa dentro da tubagem.

## **1.5 Soluções Injetáveis de Pequeno Volume**

O medicamento tem como grande objetivo o alívio de dores e de salvar vidas, mas é também um produto que passa por diversas fases no processo de produção e comercialização. Assim, para que o medicamento chegue ao consumidor com as especificações necessárias, é importante realizar pesquisas, desenvolver formulações a nível da escala industrial e por fim realizar o processamento do produto [16].

A administração de fármacos é realizada por várias vias, efeito local – tópica ou efeito sistémico – entérica (trato digestivo) e parentérica (trato não digestivo).

A via parentérica pode ser intradérmica – administração direta entre a derme e epiderme; subcutânea – administração debaixo do tecido subcutâneo; intramuscular – administração direta na massa muscular, os músculos mais frequentes são a nádega, coxa e espádua; intravenosa – administração direta numa veia, na corrente sanguínea e intra-raquidiana – administração direta no canal raquidiano, por via intratecal e por via epidural. A natureza do produto determina a via de administração mais adequada [17] [18].

Os medicamentos injetáveis são preparações estéreis, com ausência de microrganismos (produtos do metabolismo como bactérias e fungos que podem causar febre) e de partículas, com uma pressão osmótica semelhante à do plasma e um valor de pH neutro, uma vez que estes produtos são destinados à administração parenteral. [19] [20].

O médico William Harvey descobriu as soluções parenterais em 1616, através descoberta do funcionamento da circulação sanguínea e do sistema circulatório.

A via de administração parenteral está associada a uma rápida ação do medicamento, tanto em situações de emergência onde não existe cooperação do paciente, inconsciente ou impossibilitado de



aceitar ou tolerar outros medicamentos por via oral, ou quando o medicamento não é eficaz por meio de outras vias [18].

Os produtos fabris são produzidos e controlados segundo padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido e requerido de forma a cumprir as especificações associadas às BPF. Estas estabelecem que todos os processos de fabrico devem ser claramente definidos e sistematicamente revistos de forma a manter os padrões de qualidade exigidos [21].

A preparação de um produto parenteral pode abranger quatro áreas gerais [11]:

1. Aquisição e armazenagem de matérias-primas e materiais de embalagem. Nesta fase selecionam-se e testam-se as matérias-primas, materiais para o acondicionamento primário e secundário de acordo com as suas especificações;
2. Processamento do produto farmacêutico num ambiente adequado. Inclui a limpeza e esterilização dos materiais e equipamentos, preparação, filtração e enchimento dos produtos;
3. Embalar, identificar e rotular o produto numa área apropriada para garantir a integridade e o acabamento cuidado do produto;
4. Controlo da qualidade do produto ao longo de todo o processo, através da verificação dos dados históricos dos produtos e da realização dos testes de qualidade. Depois de se obterem produtos conformes, a direção técnica autoriza a sua libertação.

A maioria das soluções parenterais é muito diluída, tendo como componente de maior proporção denominado de veículo. O veículo normalmente não tem atividade terapêutica e não é tóxico, contudo, é de grande importância na formulação, visto que se apresenta aos tecidos corporais na forma do constituinte ativo para absorção. O veículo de maior importância e usado com mais frequência na preparação de produto parenteral é a água para preparações injetáveis. Esta água pode ser obtida por destilação ou por osmose inversa atendendo às especificações da Farmacopeia [11].

## **1.6 Estrutura da Dissertação**

A presente dissertação tem a seguinte estrutura:

Capítulo 1 – No primeiro capítulo efetua-se uma breve apresentação do tema, onde se contextualiza a indústria farmacêutica e todos os elementos associados e apresenta a empresa sobre a qual se realiza esta dissertação;

Capítulo 2 – No segundo capítulo apresenta-se o fundamento teórico referente ao tema da dissertação, ou seja é um capítulo alusivo ao tema da qualificação, do setor de soluções injetáveis, do controlo estatístico e da análise de risco de processos;

Capítulo 3 – No terceiro capítulo relata-se a metodologia, tendo como base a descrição dos métodos utilizados para a realização da parte prática e obtenção de resultados;

Capítulo 4 – Este capítulo está direcionado para o tratamento dos dados obtidos e discussão destes.

Capítulo 5 – No último capítulo efetua-se a conclusão da dissertação e apresentam-se algumas sugestões de trabalhos futuros relevantes para esta temática.



## Qualificação de um Setor de Fabrico

Ao conjunto de ações realizadas para aprovar e documentar instalações, sistemas e equipamentos aptos e de correto funcionamento é designado por qualificação. Esta deve estar completa antes da realização da validação do processo que possibilita, através de provas documentais, o estabelecimento e execução de atividades que venham garantir que o processo possa fornecer resultados e produtos dentro de especificações e que os elementos envolvidos no processo (equipamentos, instrumentos de medição, utilidade e outros) estejam instalados e operem de acordo com o planeado [2] [22].

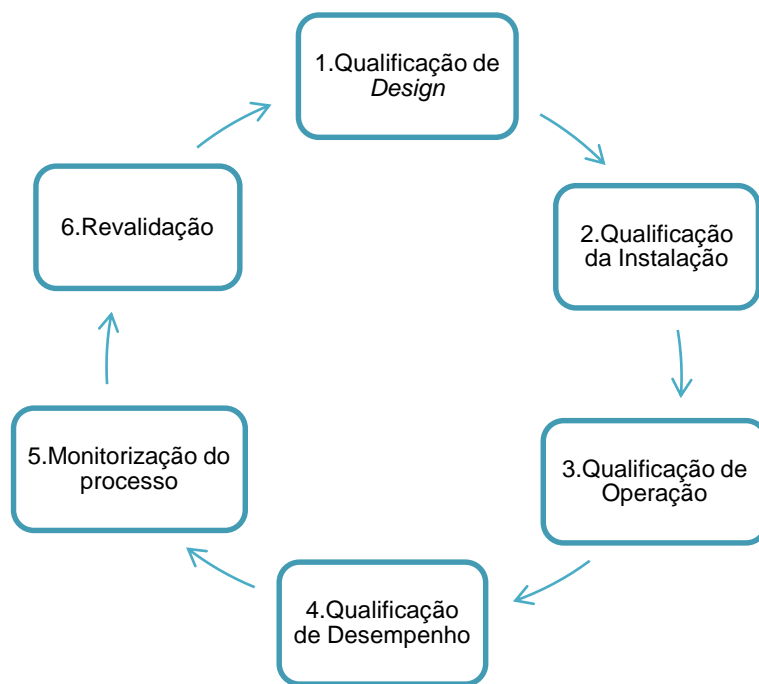
O termo qualificação é utilizado para definir os testes necessários para assegurar que o sistema ou equipamento tenha sido projetado, construído e opere dentro dos limites de aceitação para os parâmetros identificados como critérios para a qualidade, segurança e eficácia do produto, ou seja, que o sistema opere de acordo com as Boas Práticas de Fabrico [23] [24].

A qualificação não é vitalícia, portanto é necessário realizar requalificações com uma determinada frequência, pré-definida pelo plano mestre de validação. As vantagens de requalificação consistem em assegurar a correta integração do sistema no processo, antecipar a deteção de problemas e permitir a correção dos mesmos numa fase anterior à produção. Assim, minimiza os tempos de não produção e controla a maior parte dos parâmetros que afetam a qualidade do produto [25].

A qualificação permite definir requisitos, abaixo mencionados, relativamente aos aspetos relevantes para o processo, produto, operação e instalação [25]:

- Sistema de controlo (alarmes);
- *Design*, construção e instalação;
- Segurança;
- Calibração e manutenção preventiva;
- Procedimentos escritos;
- Formação.

A validação do processo pode ser estruturada em seis etapas: a qualificação de *Design*, a qualificação da instalação (QI), a qualificação de operação (QO), a qualificação de desempenho do produto/processo, a monitorização do processo e a revalidação [26], como se pode verificar na Figura 2.1.



**Figura 2.1 - Modelo de validação de processo [26].**

## 2.1 Qualificação da Instalação

A qualificação da instalação é constituída por um conjunto de operações para garantir que as instalações do processo (equipamentos, infraestruturas, instrumentos de medição, utilidades e áreas de produção) e o sistema informático (hardware, software e bases de dados) estão de acordo com as especificações estabelecidas por todas as entidades sujeitas ao cumprimento dos regulamentos das BPF [24] [27].

O projeto de uma unidade de fabrico é essencial para que as atividades realizadas assegurem a correta conceção da instalação e comissionamento. A qualificação da instalação tem como intuito demonstrar que as utilidades e os equipamentos são adequados para o uso pretendido e que são executados corretamente [2].

Qualificação da instalação, em geral, inclui as seguintes atividades [2]:

- Seleção das utilidades, dos materiais de construção do edifício, dos principais equipamentos do processo - funcionamento e características de desempenho;
- Verificar se os sistemas e os equipamentos são construídos e instalados em conformidade com as especificações do projeto (por exemplo, construídos como projetados, com materiais adequados, capacidade, funções e devidamente ligado e calibrado).
- Verificar que todos os sistemas e equipamentos operam de acordo com os requisitos do processo em todas as faixas de operação. Este inclui os resultados das intervenções, interrupções, e *start-up* como é esperado durante a produção de rotina.

Qualificação da instalação pode ser realizada por planos individuais ou como parte de um plano geral do projeto. O plano deve considerar os requisitos de uso e incorporar o risco de gestão de certas atividades principais ao processo e identificar o nível de esforço, tanto no desempenho como na documentação das atividades de qualificação [2].

O plano deve identificar os seguintes itens: os estudos ou testes utilizados, os critérios adequados para avaliar os resultados, o calendário de atividades de qualificação, as responsabilidades dos departamentos relevantes e da unidade de qualidade, e todos os documentos necessários [2].

A documentação deve especificar se todos os sistemas foram concebidos e instalados de acordo com as especificações de *design* e recomendações do fabricante ou seja se a instalação está em conformidade com os desenhos, diagramas e P&ID, se foram verificados os componentes, as ligações de serviços, os materiais e lubrificantes, os planos de calibração e manutenção e se foram realizados todos os procedimentos necessários para a instalação [25].

Assim, a qualificação da instalação requer como documentação mínima, a identificação e documentação dos requisitos de manutenção de cada item instalado e a relação de instruções de operação e trabalho dadas pelo fornecedor, bem como requisitos de limpeza e manutenção [24] [27].

## 2.2 Qualificação da Operação

A qualificação da operação consiste num conjunto de operações de forma a estabelecer, sob determinadas condições específicas, que o sistema opera conforme previsto e que os testes e as calibrações dos instrumentos de medição e ensaio cumprem as especificações necessárias [28] [29].

É importante nesta fase de qualificação, garantir que todos os dados de testes operacionais estejam em conformidade com os critérios de aceitação pré-determinados para os estudos realizados.

Nesta fase de qualificação é necessário que seja verificada a diversa documentação para que o sistema opere de acordo com as especificações funcionais nas suas gamas de utilização, ou seja, que seja verificado os testes funcionais (alarmes, testes On/Off, dispositivos de controlo – indicadores, sensores e controladores, operacionalidade do *software*, falha de energia) e os programas *in place* para o controlo e a correta utilização do sistema (plano de calibração aprovado, plano de manutenção aprovado, e os procedimentos – operação, limpeza, manutenção e calibração, formação de operadores) [25].

Quando aplicável, deve ser usado um produto de simulação para conduzir esta fase de qualificação. Os estudos das variáveis críticas devem incluir uma condição ou conjunto de condições que englobam as circunstâncias e os limites superiores e inferiores de operação ou processamento, comumente referidas como condições *worst case*.

O término de uma qualificação da operação deve permitir a finalização dos procedimentos operacionais e instruções para os operadores do equipamento. Essas informações devem ser usadas como base para a formação dos operadores nos requisitos para uma operação satisfatória do setor de fabrico [27] [24] .

## 2.3 Qualificação de Desempenho

A qualificação de desempenho (QD) que também pode ser designada por qualificação de performance (QP) é a parte do processo onde ocorre uma verificação documentada de que o equipamento ou sistema apresenta um desempenho consistente e reprodutível para períodos prolongados de acordo com os parâmetros definidos [28] [29].

A qualificação de desempenho do processo combina a instalação, as utilidades, os equipamentos e a formação de operadores com o processo de produção, os procedimentos de controlo, e componentes de produção de lotes para a comercialização. Se esta fase de qualificação for bem-sucedida, irá confirmar as etapas de fabrico e demonstrar que o processo vai ser executado como planeado [2].

Assim, o sucesso nesta fase assinala um marco importante no ciclo de vida do produto. Esta etapa deve ser finalizada com sucesso antes de ser iniciado a distribuição comercial do produto.

A abordagem à qualificação de desempenho é baseada em dados científicos sólidos. Os dados de todos os estudos relevantes (por exemplo, experiências, análises laboratoriais, lotes e efeito de escala) devem ser usados para estabelecer as condições de fabrico [2].

Na maioria dos casos, a QD terá um nível mais elevado de amostragem, de testes adicionais, e uma maior inspeção do desempenho do processo. O objetivo desta fase é estabelecer os níveis e frequência de amostragem de rotina e monitorização do produto e do processo tendo em conta o volume de produção, a complexidade do processo, o nível de compreensão do processo e a experiência com produtos e processos semelhantes [2].

A documentação é verificada de forma a mostrar que o resultado da operação dos sistemas cumpre efetivamente e de forma reproduzível os requisitos de processo. A documentação deve ser aplicada às máquinas de enchimento, às máquinas de compressão, às câmaras climáticas (T, HR), aos sistemas de água PUR e PPI, entre outros [25].

Por fim, realiza-se o plano geral de qualificação que pode ser realizado por tipo de equipamentos ou por área operacional (produção, embalagem, controlo de qualidade, serviços) e a revisão da qualificação. É um processo documentado que avalia o estado da documentação de qualificação de um sistema perante a sua situação atual e determina a necessidade de requalificação e qual a extensão da requalificação [25].

## 2.4 Classificação das Salas Limpas

No fabrico de medicamentos é possível distinguir quatro classes [33]:

**Classe A:** zona onde ocorrem operações de elevado risco, como a zona de enchimento, ampolas e frascos abertos. Este tipo de operações é realizado em sítios que contêm fluxo de ar laminar, com uma velocidade de ar entre 0.36 m/s e 0.54 m/s.

**Classe B:** a zona onde existe o enquadramento ambiental para a zona de classe A no que se refere à filtração e enchimento assético.

**Classes C e D:** áreas limpas para a execução de etapas menos críticas do fabrico de produtos estéreis.

Na Tabela 2.1 estão especificadas as outras formas de classificação de salas limpas, relacionadas entre si, de acordo com as diferentes normas ou diretrizes.

As salas limpas podem ser divididas em três estados de ocupação [33]:

**Em construção:** a instalação está completa, com todos os serviços em funcionamento, mas está sem os equipamentos de produção, materiais ou presença de pessoas.

**Em repouso:** a instalação está completa, em funcionamento, como equipamentos produtivo completo mas sem a presença de operadores.

**Em operação:** a instalação está a funcionar nas condições específicas, com o número de pessoas adequado.

**Tabela 2.1 - Classificação das salas limpas em diferentes entidades reguladoras [31] [33].**

BPF / WHO	E.U.A	ISO 14644
A	100	ISO 5
B	100	ISO 5
C	10000	ISO 7
D	100000	ISO 8

Nas áreas limpas, deve estar presente apenas pessoas aptas e qualificadas. Todas as pessoas (incluindo as pessoas que efetuam a limpeza e a manutenção) devem ter formação regular de matérias relacionadas com o fabrico correto de produtos estéreis, com referências à higiene e elementos básicos da microbiologia [31].

## 2.5 Setor de Injetáveis

O setor de injetáveis é uma instalação crítica com elevado controlo devido ao fabrico de produtos estéreis, sendo necessária uma qualificação intensiva na instalação, tanto a nível global, como de equipamentos, operadores e sistemas de suporte. A necessidade de obtenção de produtos estéreis indica que deve existir um controlo ambiental bastante restrito no setor.

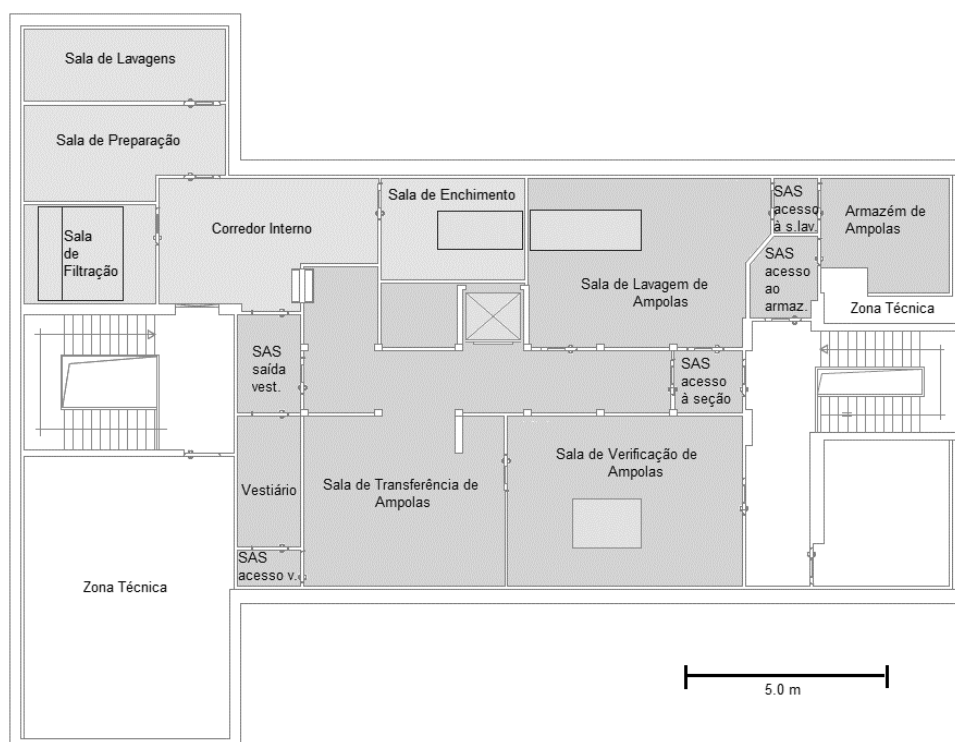
A monitorização ambiental descreve as análises microbiológicas realizadas a fim de detetar tendências das contagens microbianas dentro de salas limpas ou ambientes controlados. Os resultados obtidos fornecem informações sobre a construção física da sala limpa, o desempenho do aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC), a higiene dos operadores, o equipamento e as operações de limpeza no setor [30].

A instalação é constituída por áreas limpas, dividida em zonas críticas e zonas não críticas. A zona crítica é constituída pelo grupo de salas classificadas (segundo as BPF) como Classe A, B ou C e o acesso a esta zona é condicionado, por outro lado, a zona não crítica corresponde ao grupo de salas de classe D ou inferior [31]. As áreas limpas para o fabrico de produtos estéreis são classificadas de acordo com as características ambientais requeridas.

Um exemplo da classificação das zonas críticas e não críticas pode ser visualizado na Figura 2.2, onde retrata o caso específico do setor de fabrico de soluções injetáveis de pequeno volume dos Laboratórios Vitória. O cinzento claro representa as zonas críticas do processo e o cinzento escuro as zonas não críticas.

Nas salas limpas, todas as superfícies expostas devem ser lisas, impermeáveis, não devem existir recantos inacessíveis à limpeza e rebordos salientes. Prateleiras, armários e equipamento auxiliar devem ser reduzidos ao mínimo de modo a diminuir a contaminação ou acumulação de

partículas ou microrganismos e permitir a aplicação repetida de agentes de limpeza e de desinfetantes. [32].



**Figura 2.2 - Planta do setor de injetáveis dos Laboratórios Vitória.**

A limpeza deverá ser realizada por pessoas que tenham tido formação para esta tarefa. Os procedimentos de limpeza e técnicas serão definidos para minimizar o risco de acidentes ou falhas de sistemas que criam contaminação de modo a colocar as salas limpas, produtos, processos ou pessoas em risco [33].

É importante a existência de um isolamento que impeça a contaminação entre o espaço interior e exterior. Os tubos, condutas e outros sistemas de abastecimento devem ser instalados de forma a não criar recantos, aberturas e superfícies permeáveis difíceis de limpar [33].

Os drenos no pavimento das salas limpas de classes inferiores devem ser equipados com redes protetoras ou válvulas hidráulicas para impedir o refluxo [33].

As antecâmaras são espaços importantes usados para confinar a contaminação e também para auxiliar na manutenção dos sistemas de diferenciais de pressão. Estas são projetadas com a finalidade de separar áreas de diferentes graus de limpeza e também são utilizadas para o fluxo de materiais e operadores. As antecâmaras devem possuir uma pressão menor do que as áreas de produção, por exemplo, Classe A e B, de forma que as portas das antecâmaras devam abrir na direção de uma área com maior pressão. [34].

As duas portas pressurizadas das antecâmaras não devem abrir simultaneamente. Deve ser acionado um sistema de encravamento de portas ou um sistema de aviso visual e/ou sonoro a fim de impedir a abertura coincidente de ambas as portas [33].

Os vestiários devem ser construídos com entradas pressurizadas e utilizados como barreira física das diversas fases de mudança de vestuário, minimizando, deste modo, a contaminação



microbiana e por partículas do vestuário protetor. Devem ser eficazmente limpos com ar filtrado. No estado “em repouso”, a etapa final do vestiário deve ser da mesma classe da área a que dá acesso. Por vezes, é desejável a utilização de vestiários separados para a entrada e saída das áreas limpas [33].

No vestuário dos operadores deve constar, principalmente, uma bata, calças, touca, botas, luvas e óculos, sendo de evitar a presença de botões e pregas, pois podem alojar partículas constituindo uma fonte de contaminação [20]. O vestuário referente a cada sala limpa está indicado na Tabela 2.2.

**Tabela 2.2 – Tipo de vestuário correspondente à classificação das salas limpas [33].**

<b>Classificação da Sala</b>	<b>Vestuário – Acréscimo Sucessivo de Exigências</b>
<b>Classe D</b>	<p>O cabelo e, se for caso disso, a barba devem ser cobertos. Deve-se usar um fato protetor e sapatos ou protetores de sapatos adequados. Devem tomar-se medidas adequadas para evitar qualquer contaminação proveniente do exterior da área limpa.</p> 
<b>Classe C</b>	<p>Deve usar-se um fato completo ou de duas peças com calças, apertado nos pulsos e com gola alta. Estes fatos não devem disseminar praticamente quaisquer fibras ou partículas.</p> 
<b>Classe A e Classe B</b>	<p>A touca deve ser introduzida dentro da gola do fato; deve usar-se máscara facial para impedir o derrame de gotículas. Devem-se usar luvas de borracha ou plástico, esterilizadas e sem pó, e calçado esterilizado ou desinfetado. As calças devem ser introduzidas dentro do calçado e as mangas do vestuário dentro das luvas. O vestuário protetor não deve disseminar praticamente quaisquer fibras ou partículas e reter as partículas lançadas pelo corpo.</p> 

Quando o vestuário se destina a ser novamente usado, este deverá ser submetido a três processos diferentes de limpeza: desinfecção, ciclos de água quente e esterilização, para que se possa garantir o estado pretendido quando for novamente utilizado numa sala limpa. Nestes processos também são efetuados testes de esterilidade para comprovar que a limpeza foi realizada com sucesso e que não exista perigo de contaminação [32].

Deve ser fornecido a cada operador das áreas da classe A/B, vestuário protetor limpo e estéril (esterilizado ou adequadamente higienizado) para cada sessão de trabalho. Durante as operações, as luvas devem ser regularmente desinfetadas e juntamente com as máscaras, estas devem ser mudadas, pelo menos, em cada nova sessão de trabalho [33].

Apesar de o processo industrial de medicamentos estar muito automatizado, o papel do operador que intervém no processo é de extrema importância. Todos os operadores devem receber formação relativa não só das suas tarefas em particular como também acerca do “ambiente” do seu local de trabalho. É necessário formar sobre a técnica assética, como manter a higiene e limpeza necessárias para cada área de trabalho, elementos básicos de microbiologia, saber identificar quaisquer condições que possam provocar a propagação de um número ou tipos anormais de contaminantes, conhecer o procedimento sobre troca de roupa e lavagem de modo a minimizar a contaminação do vestuário da área limpa e como atuar em caso de emergência. Também é importante que os funcionários estejam de boa saúde, realizem exames médicos periódicos (nasofaríngeos) e relatem qualquer desenvolvimento de sintoma que seja sinal de infeção [33].

## 2.6 Classificação de Partículas

As partículas podem ser classificadas em partículas viáveis e partículas não viáveis.

Não existe um paralelo preciso entre as contagens de partículas viáveis e não viáveis, mas pode-se dizer que a qualidade microbiana será melhor numa sala limpa, onde o número de partículas não viáveis apresenta menor número [1].

Tratando-se de produtos estéreis, é de grande preocupação da indústria farmacêutica a contagem de partículas viáveis, principalmente quando se refere a produtos injetáveis. Assim, é aceitável afirmar que quanto menor for o número de partículas presentes na sala limpa, é menos provável que microrganismos estejam presentes e sejam transportados pelo ar [21].

Os limites da monitorização microbiológica são estabelecidos de acordo com o local de amostragem na produção e devem basear-se na necessidade de manter o controlo microbiológico adequado em toda a instalação de produção estéril [31].

A Tabela 2.3 apresenta a classificação de partículas não viáveis em suspensão.

**Tabela 2.3 - Classificação de partículas não viáveis [33].**

Classe	Número máximo permitido de partículas/ $m^3$			
	Em repouso		Em operação	
	0.5 $\mu m$	5 $\mu m$	0.5 $\mu m$	5 $\mu m$
<b>A</b>	3520	20	3520	20
<b>B</b>	3520	29	352000	2900
<b>C</b>	352000	2900	3520000	29000
<b>D</b>	3520000	29000	Não definido	Não definido

Os limites recomendados para monitorização microbiológica de áreas limpas durante as operações são dados na Tabela 2.4.

**Tabela 2.4 - Limites de monitorização microbiológica de salas limpas [33].**

Classe	Limites recomendados da contaminação microbiana			
	Amostra de ar (UFC / m <sup>3</sup> )	Placas de sedimentação - diâmetro de 90mm (UFC / 4h)	Placa de contacto – diâmetro 55 mm (UFC / placa)	Impressão da luva – 5 dedos (UFC / luva)
<b>A</b>	<1	<1	<1	<1
<b>B</b>	10	5	5	5
<b>C</b>	100	50	25	-
<b>D</b>	200	100	50	-

A escolha da localização da monitorização de partículas não viáveis deve ser a que garanta as posições que refletem os piores casos. É importante monitorizar a qualidade microbiológica da área crítica para determinar se as condições de assepsia são mantidas durante o enchimento e selagem do produto [2]. Assim, na monitorização da sala, a contagem deve ser projetada em locais onde existe uma maior atividade do operador.

A norma ISO 14644 - Parte 1, descreve um método para determinar o número de pontos de amostragem para a qualificação de partículas numa sala limpa. O anexo B da ISO 14644-1 demonstra que é possível determinar o número mínimo de pontos de amostragem ( $N_L$ ) pela Equação 2.1 [24].

A Equação 2.1 está direcionada para a determinação de pontos de amostragem de partículas não viáveis, mas também pode ser utilizada para os pontos de amostragem de partículas viáveis, tanto na monitorização microbiológico do ar (passiva e ativa) como na monitorização microbiológica de superfícies [2].

$$N_L = \sqrt{A} \quad \text{Equação 2.1}$$

Sendo, A - área da sala ou zona limpa (m<sup>2</sup>)

É necessário considerar os dados de monitorização ambiental a partir de dados históricos, *Media Fill*, qualificação da sala limpa e os estudos de procedimento de sanitização.

A monitorização ambiental microbiológica deve incluir limites tanto de alerta como de ação<sup>2</sup>. O limite de alerta serve de aviso e o limite de ação significa que deve ocorrer uma investigação rigorosa. Cada resultado da amostra individual deve ser avaliado pelo seu significado através da comparação com os limites de alerta ou de ação. [35].

<sup>2</sup> O Nível de alerta - quando excedido indica que o processo se desviou das condições de funcionamento normal. Constituem avisos, que não necessitam propriamente da tomada de medidas corretivas. O Nível de ação – quando excedido indica que o processo se desviou do intervalo de operação normal. Como resposta aos níveis de ação deve ser desenvolvida e documentada uma investigação e tomadas ações corretivas.

A monitorização microbiológica do ar pode ser realizada através de um método volumétrico (amostragem ativa) ou de um método de sedimentação (amostragem passiva) [35]. O método volumétrico consiste na recolha de um determinado volume de ar para placas de Petri, com meio de cultura, com o auxílio de um coletor de ar [35]. O método de sedimentação permite a monitorização contínua ao longo do processo produtivo, através da exposição de placas de Petri, com meio de cultura durante um determinado período de tempo. Estas placas de sedimentação apenas vão detetar os microrganismos que se depositam sobre a superfície do meio de cultura [35].

A monitorização microbiana de superfícies é realizada pela aplicação de placas de contato em superfícies normais de trabalho (bancada, parede e chão) e em superfícies em contacto com o produto (equipamentos). O programa de monitorização ambiental deve incluir a identificação (espécie ou género) dos microrganismos recuperados [35].

## 2.7 Microrganismos

A vida humana está intimamente relacionada com os microrganismos, abundantes no solo, na água e no ar. Estes podem assumir um papel benéfico (fermentação na produção do vinho) ou prejudicial (agentes patogénicos que podem provocar doenças) para a vida humana. A Microbiologia é uma ciência que foi impulsionada com a descoberta do microscópio por Leuwenhoek (1632 – 1723). Acredita-se que os microrganismos apareceram na terra há bilhões de anos a partir de um material complexo de águas oceânicas ou de nuvens. Os principais tipos de microrganismos que se conhece – protozoários, algas, fungos e bactérias foram descritos pela primeira vez por Leuwenhoek [36]. No sistema de nomenclatura descrito por Linnaeus (1735), cada organismo vivo é identificado por dois nomes, o género e o epíteto específico, sendo ambos sublinhados ou escritos em letras itálicas [37].

Os agentes biológicos, que incluem microrganismos (vírus, bactérias e fungos) são classificados, conforme o seu nível de risco infeccioso, nos seguintes grupos [37] [38]:

- Agente biológico do grupo 1 - agente biológico cuja probabilidade de causar doenças no ser humano é baixa, desde que as defesas não estejam diminuídas.
- Agente biológico do grupo 2 - agente biológico que pode causar doenças no ser humano e constituir perigo para os trabalhadores, sendo escassa a possibilidade de se propagar na coletividade e para o qual existem, em regra, meios eficazes de tratamento.
- Agente biológico do grupo 3 - agente biológico que pode causar doenças graves no ser humano e constituir um risco grave para os trabalhadores, sendo suscetível de se propagar na coletividade, mesmo que existam meios eficazes de tratamento.
- Agente biológico do grupo 4 - agente biológico que causa doenças graves no ser humano e constitui um risco grave para os trabalhadores, sendo suscetível de apresentar um elevado nível de propagação na coletividade, e para o qual não existem meios eficazes de tratamento.

Na Tabela 2.5 é possível verificar alguns microrganismos que podem ser detetados nas análises de controlo microbiano nas instalações e sistemas de suportes. Os microrganismos podem dividir-se em dois tipos de morfologia consoante a sua parede celular. Os Gram-negativos são constituídos por uma parede celular com endotoxina LPS (lipopolissacarídeo) e os Gram-positivos que tem na constituição da sua parede uma exotoxina que contém ácido lipoprotéico.

**Tabela 2.5 - Espécie de alguns microrganismos [38].**

<b>Microrganismo</b>	<b>Origem</b>	<b>Patogenicidade</b>	<b>Morfologia</b>
<i>Brevundimonas diminuta</i>	Ambiental (água)	Não patogénico	Gram -
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	Ambiental (água e solo)	Não patogénico	Gram -
<i>Kocuria varians</i>	Humana (pele) / Ambiental	Não patogénico	Gram +
<i>Micrococcus lylae</i>	Ambiental / Humana (pele)	Patogénico para indivíduos com imunidade reduzida	Gram +
<i>Micrococcus luteus</i>	Ambiental / Humana (pele)	Patogénico para indivíduos com imunidade reduzida	Gram +
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ambiental	Patogénico para indivíduos com imunidade reduzida	Gram -
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Ambiental/Amostras clínicas	Patogénico para indivíduos com imunidade reduzida	Gram -
<i>Staphylococcus hominis</i>	Humana (pele) / Amostras clínicas	Raramente patogénicos	Gram +
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Humana e animal (pele)	Raramente patogénico	Gram +
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Humana (pele e trato urinário) / Ambiental	Patogénico	Gram +

## 2.8 Meios de Cultura

Os meios de cultura promovem o crescimento, *in vitro*, dos microrganismos tendo em linha de conta as suas exigências nutricionais. Na sua composição, os meios de cultura incluem os nutrientes indispensáveis ao organismo em causa, sob forma assimilável. Quantitativamente os nutrientes deverão estar presentes em quantidades adequadas e não tóxicas, tais que a carência de qualquer um deles não impeça a utilização dos demais [39].

Para além dos nutrientes requeridos às exigências dos microrganismos, o meio de cultura deve ser estéril e o valor do pH deverá situar-se dentro da gama tolerada pelos diferentes microrganismos. Em termos gerais, os meios de cultura podem ser classificados de acordo com três principais aspetos: estado físico (líquido, sólido e semissólido) (ver Tabela 2.6), composição química e objetivos funcionais (simples, seletivos, diferenciais e enriquecidos) [39].

Os meios de cultura simples permitem o desenvolvimento de todo o tipo de microrganismos. Os seletivos contêm substâncias que inibem o desenvolvimento de determinados grupos de microrganismos, permitindo o crescimento de outros. Quando os meios contêm substâncias que permitem estabelecer diferenças entre microrganismos muito parecidos são classificados como diferenciais. E por fim os meios de cultura enriquecidos são aqueles que proporcionam nutrientes adequados ao crescimento de microrganismos presentes usualmente em baixo número ou de crescimento lento, bem como microrganismos exigentes e fastidiosos. Esses meios têm a propriedade de estimular o crescimento de determinados microrganismos, existindo também aqueles que podem inibir o crescimento de outros [35] [40].

### Promoção e Inibição de crescimento de microrganismos

O objetivo da verificação da propriedade de promoção de crescimento é garantir a confiança de que os microrganismos-alvo serão sempre recuperados com uma determinada sensibilidade. O objetivo da verificação da propriedade de inibição de crescimento é garantir a confiança de que o meio de cultura impossibilita o desenvolvimento de determinados microrganismos, para benefício do desenvolvimento de outros, garantindo assim a seletividade do meio [39].

**Tabela 2.6 - Meios de cultura e as suas características [40].**

<b>Meio de Cultura</b>	<b>Cor</b>	<b>Limpidez</b>	<b>Textura</b>
<i>Sabouraud-dextrose Agar</i> (SDA)	Amarelo acastanhado	Límpido	Sólido
<i>Tryptic Soy Broth</i> (TSB)	Amarelo acastanhado	Límpido	Líquido
<i>Tryptic Soy Agar</i> (TSA)	Amarelo acastanhado	Límpido	Sólido
<i>Violet Red Bile Glucose Agar</i> (VRBA)	Vermelho escuro	Límpido	Sólido
<i>MacConkey Agar</i> (MCA)	Vermelho escuro	Límpido	Sólido
<i>Cetrimide Agar</i> (Cet)	Castanho claro	Turvo	Sólido
<i>Enterobacteria enrichment broth-Mossel</i> (EEB)	Verde	Límpido	Líquido
<i>MacConkey Broth</i> (MCB)	Violeta	Límpido	Líquido
<i>Xilose, lysine, deoxycholate agar</i> (XLD)	Vermelho	Límpido	Sólido
<i>R2A agar</i>	Amarelo Claro	Quase límpido	Sólido
<i>Reinforced medium for clostridia</i> (RCM)	Amarelado	Límpido	Líquido
Água Peptonada Tamponada (APH)	Ligeiramente amarelado	Límpido	Líquido
<i>Sabouraud- dextrose Broth</i> (SDB)	Amarelo acastanhado	Límpido	Líquido
<i>MannitolSalt agar</i> (MA)	Vermelho	Límpido	Sólido
<i>Columbia Agar</i> (CA)	Amarelo acastanhado	Límpido	Sólido
<i>Rappaport Vassiliadis Salmonella enrichment broth</i> (RVSB)	Azul escuro	Límpido	Líquido

O laboratório deve possuir um conjunto de microrganismos de referência com características estáveis, representativas das suas espécies, para utilizar na demonstração do desempenho dos meios de cultura de laboratório [39].

Este teste tem como objetivo verificar se os meios de cultura adquiridos permitem o desenvolvimento/inibição de culturas microbianas específicas, pela inoculação de um número conhecido (geralmente baixo) de microrganismos, no meio de cultura a ensaiar, sendo a sua recuperação avaliada [39] como se pode verificar na Tabela 2.7. No caso dos meios de cultura utilizados no ensaio de esterilidade, a promoção do crescimento é garantida pelo fabricante/fornecedor com apresentação do respetivo certificado de análise e pela realização dos testes adequados em todos os lotes rececionados [40].

## 2.9 Sistemas de Suporte e utilidades

Os sistemas de suporte e as utilidades são fundamentais para se conseguir obter um ambiente controlado nas salas limpas. Estes sistemas são constituídos por aquecimento, ventilação e ar condicionado, água, azoto, entre outros [24].

**Tabela 2.7 - Promoção e Inibição de crescimento de microrganismos em meios de cultura [40].**

<div>Microrganismos</div> <div>Meios de Cultura</div>	Teste	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Clostridium sporogenes</i>	Temperatura de Incubação	Duração
<i>Tryptic Soy Agar</i> (TSA)	PC (bactéria)	X		X			X			30-35°C	≤ 3 dias
	PC (fungos)				X	X					≤ 5 dias
<i>Tryptic Soy Broth</i> (TSB)	PC	X		X			X			30-35°C	≤ 3 dias
<i>Saboraud dextrose Agar</i> (SDA)	PC				X	X				20-25°C	≤ 5 dias
<i>Sabouraud dextrose Broth</i> (SDB)	PC				X					30-35°C	≤ 3 dias
<i>Enterobactérias enrichment Mossel Broth</i> (EEB)	PC		X				X			30-35°C	≤ 24 h
	IC	X								30-35°C	≥ 48 h
<i>Macconkey Broth</i> (MCB)	PC		X							42-44°C	≤ 24 h
	IC	X								42-44°C	≥ 48 h
<i>Macconkey Agar</i> (MCA)	PC		X							30-35°C	≤ 18 h
<i>Violet Red Bile Agar</i> (VRBA)	PC		X				X			30-35°C	≤ 18 h
	IC	X								30-35°C	≥ 24 h
<i>Rappaport Vassiliadis Salmonella enrichment Broth</i> (RVSB)	PC							X		30-35°C	≤ 18 h
	IC	X								30-35°C	≥ 24 h
<i>Xilose-Lisina-Deoxycholate Agar</i> (XLD)	PC							X		30-35°C	≤ 18 h
<i>Cetrimida Agar</i> (Cet)	PC						X			30-35°C	≤ 18 h
	IC		X							30-35°C	≥ 72 h
<i>Reinforced medium for Clostridia</i> (RMC)	PC								X	30-35°C	≤ 48 h
<i>Columbia Agar</i> (CA)	PC								X	30-35°C	≤ 48 h
<i>Mannitol salt Agar</i> (MA)	PC	X								30-35°C	≤ 18 h
	IC		X							30-35°C	≥ 72 h
<i>R2A agar</i>	PC			X			X			30-35°C	≤ 3 dias

Nota: PC - Promoção de Crescimento e IC - Inibição de Crescimento.

### 2.9.1 Sistemas de Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado

Os sistemas de aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC) ou sistema de tratamento de ar têm um papel fundamental na qualidade de produtos farmacêuticos. Este sistema oferece proteção ao produto durante as etapas de produção, condições confortáveis e seguras aos operadores e protege o meio ambiente de contaminantes provenientes do processo de fabrico.

A qualidade do ar no interior da sala limpa depende da contaminação do ar exterior que entra na sala, da eficiência do sistema AVAC em remover os contaminantes do ar e das atividades realizadas nas áreas internas. Para atender aos requisitos da qualidade de ar em áreas produtivas deve-se ter em conta o aquecimento, arrefecimento, humidificação e desumidificação, renovação do ar, filtragem e ventilação [34].

A unidade de tratamento de ar (UTA) é um dispositivo usado para condicionamento e circulação de ar, e faz parte do sistema AVAC. A UTA consiste numa grande caixa metálica que contém um ventilador mecânico, elementos de aquecimento e arrefecimento, elementos de filtragem, atenuadores de ruído e grelhas de admissão e saída de ar.

A filtragem tem como objetivo prover ar com níveis aceitáveis de contaminantes de partículas no interior de uma instalação. O grau de pureza do ar é obtido através da utilização de filtros na UTA, nas condutas de abastecimento e de retorno do ar exterior [34].

Os sistemas de tratamento de ar utilizados no abastecimento de áreas produtivas possuem uma sequência de filtros instalados. Os filtros de menor eficiência, também denominados de pré-filtros e os filtros com maior eficiência (filtros HEPA) utilizados como filtros finais. A função dos pré-filtros é proteger os filtros HEPA contra a sua rápida saturação, assim, os pré-filtros são relevante para o correto funcionamento do sistema de ar. Os filtros HEPA são capazes de reter, pelo menos, 99,97% de partículas com diâmetro superior a 0,3  $\mu\text{m}$  [41].

A vida útil dos filtros HEPA (*high efficiency particulate air*) depende diretamente das condições ambientais, como o nível de limpeza das salas, da contaminação do ar exterior, da percentagem de renovação de ar, das condições de instalação e de manutenção. Estes filtros devem ser testados para detetar os possíveis vazamentos. Os filtros HEPA podem ser posicionados na UTA como filtro final ou na posição final antes da entrada no ar na sala limpa [42].

Nas salas limpas também é necessária a utilização de sistemas de extração de ar, mas estes podem não ser suficientes para capturar toda a contaminação gerada no interior da sala. Assim, é imprescindível a utilização de fluxos de ar unidirecionais para a ajudar na extração das partículas contaminantes, sendo o sistema de fluxo laminar um dos equipamentos mais importantes na manipulação de produtos estéreis farmacêuticos e considerado um dos principais meios preventivos de contaminação não só do produto mas também do operador e meio ambiente [34] [24].

Os sistemas de fluxo de ar unidirecional utilizados numa sala de classe A devem ter uma velocidade entre 0.36 m/s e 0.54 m/s. O fluxo de ar laminar é um fluxo no qual toda a quantidade de ar se encontra confinada a uma área e se move a uma velocidade unidirecional ao longo de linhas de fluxo paralelas. A insuflação é efetuada através dos filtros instalados no teto de modo a gerar turbulências e remover os contaminantes e assim manter a classe de limpeza dentro dos níveis especificados. Em seguida, ocorre a exaustão do ar que é realizada através das grades instaladas em baixo nas paredes ou portas. O objetivo é manter afastado qualquer potencial microrganismo ou partículas contaminantes [43].

Os sistemas de AVAC são constituídos por vários equipamentos: sondas de temperatura e humidade relativa, manómetros e pressostatos diferenciais, torres de arrefecimento, caldeiras e caudalímetros [25] [24].

Segundo a ISO 14644, devem ser realizados alguns testes de requalificação do sistema de AVAC para uma verificação periódica da conformidade do setor. Os testes consistem em teste de integridades aos filtros HEPA, determinação do número de renovações de ar, testes de contagem de partículas não viáveis, determinação dos diferenciais de pressão, temperatura e da humidade relativa nas salas [31].

## **Pressão**

O abastecimento do ar filtrado deve manter uma pressão positiva e um fluxo de ar superior em relação às áreas circundantes de classe inferior em todas as condições operacionais e limpeza. As



salas adjacentes de diferentes classes devem ter uma pressão diferencial de 10 - 15 pascais. Deve existir um sistema de alerta para indicar falhas no abastecimento de ar e manómetros entre as áreas em que estas diferenças sejam significativas. As diferenças de pressão devem ser registadas regularmente e/ou documentadas [33]. A magnitude do diferencial não pode ter valores superiores aos estabelecidos para não criar problemas de turbulências [24].

### **Temperatura e Humidade Relativa**

A temperatura e humidade relativa devem ser controladas e monitorizadas para assegurar as condições necessárias à qualidade de materiais e produtos. Estas devem ser mantidas num intervalo confortável para os operadores e devem ser compatíveis com as propriedades do produto fabricado [34].

### **Azoto**

O azoto é produzido, armazenado e distribuído de forma a garantir a total conformidade com a Farmacopeia Europeia e as BPF.

O azoto é utilizado na indústria farmacêutica no acondicionamento, transporte e armazenagem dos produtos farmacêuticos e em processos de inertização (proteger um processo de humidade, oxidação, degradação e contaminação). A necessidade desta utilização advém do facto do ar atmosférico ser composto por oxigénio e vapor de água, que em contacto com os medicamentos degrada a qualidade destes por oxidação e hidratação. Por outro lado, dado que os medicamentos são muitas vezes manipulados sob a forma de pó, o azoto evita os riscos de incêndio e explosão. O azoto líquido é utilizado para controlar a temperatura em aplicações de arrefecimento de reatores e preservar as amostras biológicas [44].

## **2.9.2 Água**

A água para uso farmacêutico exige um tratamento de pureza apropriado para assegurar a eliminação de impurezas físico-químicas e microbiológicas, que afetam a qualidade dos produtos farmacêuticos. Esta qualidade é alcançada através da instalação, validação e operação apropriada dos processos de purificação, sistemas de armazenagem e distribuição [11]. Na estação de tratamento de águas (ETA) existem três tipos de água: água de rede, água purificada e água de preparações injetáveis. No Anexo A.1 encontra-se um esquema de funcionamento de uma ETA.

A água de rede é a água destinada ao consumo humano, ou seja é toda a água no seu estado original, ou após tratamento, destinada a ser consumida, à preparação de alimentos ou outros fins domésticos, independentemente da sua origem e de ser fornecida através de uma rede de distribuição [3].

Um sistema de tratamento de água é constituído por pré-tratamento; tratamento; dispositivos de armazenagem e distribuição; dispositivos de monitorização e controlo do processo; sistemas de limpeza química e de sanitização [45].

O sistema de pré-tratamento de água é constituído por quatro fases, conforme a Tabela 2.8 [45]. A água de rede é um líquido límpido, incolor, inodoro e insípido, e tem determinadas especificações. Normalmente, realizam-se análises físico-químicas (pH, condutividade, alumínio, amoníaco, cloretos, ferro, manganês, nitratos, nitritos, dureza total e cloro residual) e análises microbiológicas (microrganismos aeróbios viáveis totais, fungos e leveduras totais, Coliformes,

*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* e *Clostridium perfringens*) [46]. As especificações da água da rede estão descritas na Tabela 2.9.

**Tabela 2.8 - Fases de pré-tratamento de água**

<b>Fase 1</b>	Coagulação e floculação	Neutralização das cargas das partículas floculadas, permitindo a decantação
<b>Fase 2</b>	Decantação	Separação das partículas grandes dos agregados formados na fase anterior
<b>Fase 3</b>	Filtração	Separação das partículas que ainda se encontram em suspensão
<b>Fase 4</b>	Desinfecção	Inativação de organismos patogênicos

**Tabela 2.9 - Especificações da água de rede [46].**

<b>Parâmetros</b>	<b>Valor paramétrico</b>
Microrganismos aeróbios totais	≤ 100 UFC/mL
Bactérias coliformes	Ausente/100 mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausente/100 mL
Desinfetante residual	0 mg/L
Alumínio	200 µg/L Al
Amônio	0,5 mg/L NH <sub>4</sub>
Cheiro, a 25°C	3 (Fator de diluição)
Cor	20 mg/L PtCo
Condutividade	2500 µS/cm a 20°C
<i>Clostridium perfringens</i> (incluindo esporos)	Ausente/100 mL
pH	6,5 a 9,0
Ferro	200 µg/L Fe
Manganês	50 µg/L Mn
Nitratos	50 mg/L NO <sub>3</sub>
Nitritos	0,5 mg/L NO <sub>2</sub>
Oxidabilidade	5 mg/L O <sub>2</sub>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausente/100 mL
Turvação	4 UNT
<i>Burkholderia cepacia</i>	Ausente/100 mL

A água purificada é uma água destinada a preparação de medicamentos com exceção dos que são obrigatoriamente estéreis e isentos de microrganismos. As especificações da água purificada estão descritas na Tabela 2.10.

Há diferentes tecnologias que podem ser utilizadas na produção de água purificada, tais como a desionização, a osmose inversa e a ultrafiltração. Na desionização, a água a ser tratada passa por uma coluna com grãos de uma resina iônica. Na osmose inversa existe uma membrana que atua como barreira seletiva a todos os sais dissolvidos. A ultrafiltração consiste na separação de macromoléculas de diâmetros até 0,01 µm [45]. O mais comum é o tratamento com a combinação destas três tecnologias.

A água para preparação injetáveis (PPI) é uma água destinada à preparação de medicamentos administrados por via parentérica, ou seja, é utilizada como matéria-prima. Esta água é utilizada na diluição de substâncias ou preparações para administração parentérica e na lavagem de componentes e equipamentos [45]. As especificações da água PPI estão descritas na Tabela 2.10.

**Tabela 2.10 - Especificações da água purificada e da água para preparações de injetáveis [47].**

Parâmetros	Valor paramétrico	
	Água purificada	Água para Preparação de Injetáveis
Carbono orgânico total (TOC)	0,5 mg/L	0,5 mg/L
Condutividade	5,1 µS/cm a 25°C	1,3 µS/cm a 25°C
Características	Líquido límpido e incolor	Líquido límpido e incolor
Nitratos	0,2 ppm	0,2 ppm
Metais pesados	0,1 ppm	0,1 ppm
Microrganismos aeróbios totais	≤ 100 UFC/mL	≤ 10 UFC/100 mL
pH	5,00 a 7,00	5,00 a 7,00
Coliformes	Ausente/100 mL	Ausente/100 mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Ausente/100 mL	Ausente/100 mL
Endotoxinas bacterianas	-	< 0,25 UI/mL
Partículas não visíveis	-	25/ml para partículas ≥ 10µm
	-	3/ml para partículas ≥ 25µm
<i>Burkholderia cepacia</i>	Ausente/100 mL	Ausente/100 mL
Substâncias oxidáveis	A solução permanece ligeiramente rosada	-

A água PPI tem um fluxo contínuo com um caudal pré-estabelecido (sistema em *loop*). Contudo, a água PPI também pode ser armazenada à temperatura ambiente num período máximo de 24 horas, sendo necessário o processo de sanitização frequente para minimizar o risco de contaminação de microrganismos. A sanitização é uma técnica que pode reduzir a população de microrganismos em 90%. No caso da sanitização da linha de água, utiliza-se a circulação de água

quente durante 120 minutos a uma temperatura superior a 85°C, sendo esta operação realizada quinzenalmente ou sempre que a linha esteja parada mais que duas horas ou sempre que sejam detetados valores das análises físico-químicos ou microbiológicos fora das especificações [47].

## 2.10 Processo de Fabrico de Produtos Estéreis

O fabrico de produtos estéreis está sujeito a requisitos especiais com o intuito de minimizar os riscos de contaminação microbiológica, por partículas e pirogénicos.

Este fabrico deve ocorrer em áreas limpas, cujo acesso deve ser efetuado através de entradas pressurizadas para os operadores, equipamento e materiais. As áreas limpas devem ser mantidas num nível de limpeza adequado e providas com ar filtrado por filtros de eficiência apropriada [33].

O fabrico de produtos estéreis é constituído por várias etapas [48]:

Pesagem: A substância ativa (API) e os excipientes devem ser testados de acordo com as suas especificações e apenas os materiais alocados a ordens de fabrico podem entrar nas salas de pesagem. A pesagem deve ser realizada em zonas de classe D.

Preparação de solução: Após a pesagem, os APIs e excipientes são transferidos para a área de produção, concretamente para a sala de preparações, de Classe C, onde existem várias cubas. Inicia-se o processo pela adição de uma pequena quantidade de água para preparações injetáveis, a uma determinada temperatura. A restante quantidade de água é adicionada após a dissolução total dos materiais adicionados. A agitação pode ser influenciada por tempo ou velocidade.

Filtração: A solução é filtrada através de um filtro de 0,22 µm (esterilização por filtração), quando é transferida da cuba para a máquina de enchimento. Neste filtro deve ser testada a sua integridade antes e depois de cada utilização.

Lavagem de ampolas: A temperatura, a pressão e a velocidade influenciam a eficácia da lavagem de ampolas, uma vez que se a lavagem for muito rápida existe uma maior probabilidade de se partirem ampolas e de permanecerem sujas.

Despirogenização de ampolas: Após a lavagem, as ampolas são transportadas continuamente para o túnel onde são esterilizadas e despirogenizadas. Estas são arrefecidas antes de serem transferidas para a estação de enchimento e selagem. A velocidade das correias transportadoras pode influenciar a estabilidade das ampolas no túnel e também o tempo que permanecem no túnel, que afeta a exposição das ampolas à temperatura de despirogenização.

Enchimento: Após arrefecimento, as ampolas são encaminhadas para a linha de enchimento e de selagem. O fluxo de solução deve fluir adequadamente e as agulhas de enchimento dependem do fluxo do produto.

Selagem: A temperatura da chama vai derreter o vidro e selar a ampola. A altura da ampola é determinada pela altura da chama de modo a facilitar a abertura da ampola.

Esterilização: As ampolas estão colocadas em bandejas e, dependendo do produto, podem ser esterilizadas em autoclave. O tempo deverá ser de pelo menos 15 minutos, a uma temperatura de 121°C, sendo a temperatura e o tempo a chave do processo de esterilização visto que assegura a eliminação dos microrganismos.

As ampolas podem ser incolores – vidro muito transparente no espectro visível; coradas ou âmbar – vidro pode ser corado por adição de pequenas quantidades de óxidos metálicos escolhidos em função da absorção espectral desejada [48].

As operações de fabrico dividem-se em duas categorias: aquelas em que o produto é submetido a esterilização final e aquelas que são conduzidas assepticamente em algumas ou todas as etapas do processo [33].

A esterilização final envolve o enchimento e vedação de acondicionamento primário de produtos sob condições ambientais de alta qualidade. As ampolas são cheias e seladas nestas condições para minimizar o teor microbiano e de partículas no produto durante o processo e para garantir que o posterior processo de esterilização é bem sucedido. Na maioria dos casos, o produto e a ampola têm uma baixa carga microbiana, mas podem não ser estéreis. Em seguida, o produto na sua embalagem final é submetido a um processo de esterilização por calor ou irradiação [43] [49].

É preferível que os produtos farmacêuticos sejam esterilizados no acondicionamento final. Porém, em alguns produtos não é possível realizar este tipo de esterilização devido ao elevado calor que pode afetar a estabilidade molecular do produto ou pode danificar a embalagem primária. Assim, esses produtos devem ser produzidos utilizando o processamento assético [21].

Por outro lado, no processo assético, o medicamento, o acondicionamento primário e o fecho são inicialmente submetidos a métodos de esterilização separados. Por não existir um processo para esterilizar o produto no seu recipiente final, é fundamental que os recipientes sejam preenchidos e selados num ambiente de qualidade extremamente elevada [43] [49]. A finalidade do processamento assético é prevenir a contaminação microbiana dos componentes estéreis na fase intermediária da produção do medicamento [21].

Em comparação com a esterilização final, o processo assético tem um maior número de variáveis, envolve vários tipos de processo de esterilização (a esterilização por calor seco para recipientes de vidro, esterilização por vapor para mangueiras de silicone e esterilização por filtração para o produto), é muito sensível ao ambiente e tem grande dependência do operador [43].

No final do processo de fabrico, todas as ampolas passam por uma máquina de verificação de ampolas, que verifica as partículas visíveis, o volume e a estanquidade de todas as ampolas do lote. No processo de verificação de soluções injetáveis não se retira uma fração do lote para amostragem, uma vez que se realiza a verificação a todas as ampolas.

### **2.10.1 Esterilização**

A esterilidade é a ausência de microrganismos viáveis. O produto está estéril quando passa por um processo de esterilização no qual se atingem as condições necessárias [28].

#### **Indicadores Biológicos**

Os indicadores biológicos podem ser utilizados durante o processo de esterilização a fim de garantir a eficácia do método de esterilização. O indicador biológico consiste numa preparação *standard* de um microrganismo específico que fornece uma definida resistência e é estável a um determinado método de esterilização. Assim, os indicadores biológicos são utilizados de modo a obter a probabilidade final da sobrevivência microbiana tanto nos processos de esterilização final do produto como na esterilização de equipamentos, materiais e componentes de embalagem no processo assético [21].

Os indicadores biológicos são geralmente constituídos por uma população de esporos bacterianos depositados num suporte inerte que é embalado de modo a que o conjunto fique protegido de qualquer alteração ou contaminação, permitindo no entanto que o agente esterilizante entre em contacto com os microrganismos [50].

## **Métodos de Esterilização**

Um método de esterilização tem como finalidade remover ou destruir todas as formas de vida, macroscópica ou microscópica, presentes no produto. O procedimento selecionado para atingir o nível de garantia de esterilidade depende do conhecimento da natureza do material e do processo de esterilização [43].

Existem vários métodos de esterilização, os de natureza química, como a utilização de gases ou líquidos como o formaldeído, óxido de etileno ou ozono; e os de natureza física, como por exemplo, a utilização de calor seco ou húmido, radiações ionizantes e a filtração por membrana porosa [43].

A principal preocupação quando se escolhe o melhor método de esterilização é garantir a segurança, efetividade e estabilidade posterior do produto. A esterilização por calor é o método mais simples, económico e seguro na indústria farmacêutica, porém cada microrganismo exibe uma sensibilidade diferente à ação do calor. O método tem dois fatores importantes para a inativação dos microrganismos - a temperatura e o tempo de exposição. [21] [51].

A esterilização por calor pode ser dividida em esterilização por calor húmido e esterilização por calor seco. A esterilização por calor húmido é indicada para materiais permeáveis e soluções aquosas e a esterilização por calor seco para líquidos não aquosos e produtos em pó [21].

## **Esterilização por Calor Húmido**

Para a utilização deste método para a esterilização de preparações aquosas é necessário um aquecimento de pelo menos 121 °C durante 15 minutos. É possível utilizar-se outras combinações de tempo e temperatura (Tabela 2.11), mas para poderem ser utilizadas devem ser validadas de modo a comprovar a eficácia necessária [21] [51].

O equipamento mais utilizado para este método de esterilização é a autoclave. Este equipamento é muito frequente em salas estéreis com a vantagem de poder ser um equipamento com dupla extremidade, o que faz com que ocorra uma maior eficácia na segregação de produtos esterilizados e não esterilizados e que permite a passagem direta de materiais ou produtos esterilizados. [43] [51] Além disso tem a vantagem de não permitir que ocorra inversão de fluxo.

Este método tem como aplicações as preparações aquosas seladas, equipamentos e instrumentos, vestuários, mangueiras e filtros.

A grande vantagem no processo de esterilização final é que consegue destruir os vírus e bactérias num curto período de tempo, apesar de ter como desvantagem os elevados custos energéticos e de não poder ser utilizado em materiais que possam ser danificados pelo calor [43].

**Tabela 2.11 - Combinações de temperatura, pressão e tempo para a esterilização por calor húmido [43].**

Temperatura (°C)	Pressão (psi)	Tempo (minutos)
115-118	10	30
121-124	15	15
136-129	20	10
134-138	32	3

### **Esterilização por Calor Seco**

A realização da técnica de esterilização por calor seco é adequada para artigos como vidros, metais, pós, vaselinas, gorduras, ceras, soluções e suspensões oleosas e tecidos especiais, ou seja, materiais sensíveis a esterilização por calor húmido. Esse método de esterilização deve ser realizado em estufa cuja distribuição de calor seja homogénea. Assim, para realização deste método, a temperatura mínima deve ser de 160 °C durante 2 horas, apesar de ser possível outros conjuntos de valores de temperatura e tempo que consigam demonstrar a eficácia desejada, ver na Tabela 2.12 [21] [52].

**Tabela 2.12 - Combinações de temperatura e tempo para a esterilização por calor seco [43].**

Temperatura (°C)	Tempo (minutos)
180	30
170	60
160	120

Os equipamentos mais utilizados no método de esterilização por calor seco são a estufa e o túnel de esterilização em linha que pode ter a vantagem de ser também um túnel de despirogenização, sendo uma solução eficaz e eficiente. [43]. Este método tem a vantagem de ser menos prejudicial para os metais, e como desvantagens o facto de poder matar os microrganismos mas não os conseguir remover e só poder ser usado para materiais e produtos que consigam suportar elevadas temperaturas [52] [43].

Este método de esterilização utiliza temperatura e tempos de exposição mais elevados em comparação com o método anterior, uma vez que o calor seco é menos eficaz do que o vapor. Assim, a esterilização por vapor é mais eficaz à mesma temperatura por causa da melhor transferência de calor (contacto) e pelo maior conteúdo de energia (calor sensível e calor latente de vaporização) [43].

## **2.11 Media Fill**

Os testes de *Media Fill* são cruciais para a validação e controlo de processos assépticos nas indústrias farmacêuticas, sendo realizados em duas situações, numa simulação de novos processos, equipamentos e mudanças críticas no processo e numa simulação de rotina (semestralmente) [53].

Este método é capaz de demonstrar a capacidade do processo em manusear produtos de forma estéril, qualificar e certificar os operadores e sua técnica no manuseio de produtos asséticos, e por fim, demonstrar que os controlos ambientais são adequados para atender os requisitos básicos necessários para produção de um medicamento estéril por processamento assético, além de cumprir com os requisitos de Boas Práticas de Fabrico [53].

Este método utiliza um meio de cultura adequado em substituição ao produto. Os critérios para a seleção de meio de crescimento incluem a baixa seletividade (devendo ser capaz de suportar uma ampla gama de microrganismos), a clareza (facilidade em observar a turvação), concentração e meio de filtração [53].

Assim, o meio nutriente líquido deve ser preparado de forma semelhante ao produto. O meio é dissolvido em água para preparações de injetáveis no recipiente de fabrico apropriado. Se for necessário aumentar a temperatura para uma melhor dissolução, este aumento deve ser o mínimo possível. O pH é medido e ajustado. O meio deve ser filtrado asseticamente para a cuba de *stockagem* e deve cumprir todos os piores casos do processamento assético [27] [15].

O processo de simulação deve representar a situação de *worst case* e incluir todas as manipulações e investigações durante o turno. O volume de enchimento das ampolas deve ser suficiente para permitir um contacto a todas as superfícies quando a ampola é invertida e para permitir a deteção do crescimento microbiano.

Normalmente a incubação realiza-se durante 14 dias, a 20-25 °C durante os primeiros 7 dias e a 30-35 °C até completar os 14 dias, sendo a temperatura de 20-25 °C propícia à proliferação de fungos e a temperatura 30-35 °C favorável ao crescimento de bactérias.

Os microrganismos presentes nas embalagens devem ser identificados até ao género e espécie de forma a ser possível a determinação das fontes de contaminação [27].

O número de recipientes utilizado nas operações de simulação deve ser suficiente para permitir uma avaliação válida. O objetivo é a ausência de crescimento em todos os recipientes.

De acordo com o descrito no Anexo 1 de Boas Práticas de Fabrico, o critério de aceitação é aplicável [33]:

- Para o número de unidades inferior a 5000, não deve ser detetada nenhuma ampola contaminada;
- Para o número de unidades compreendidas entre 5000 e 10000, no máximo apenas deve ser detetada uma ampola contaminada. Esta deve ser investigada tendo em consideração a repetição do lote do *Media fill*. Se forem detetadas duas ampolas contaminadas, tem de ser realizada uma nova validação seguida de investigação e medidas de ação.
- Para o número de unidade superior a 10000, se for detetada uma ampola contaminada, esta deve ser investigada e se forem detetadas duas ampolas contaminadas, tem de ser realizada uma nova validação seguida de investigação e medidas de ação.

Os limites de alerta e de ação são estabelecidos. O limite de alerta é definido como nível estabelecido de unidades contaminadas cuja causa deve ser investigada, mas não é necessário uma ação corretiva. Por outro lado, o limite de ação é definido como critérios estabelecidos excedidos que exigem acompanhamento imediato e ação corretiva [15]. A utilização dos piores casos tem a intenção de verificar o processo, em condições muito parecidas com as condições normais de operação. Se nas circunstâncias de *worst case* os resultados forem aceitáveis, indica a existência de confiança no sistema de produção em condições normais de trabalho [54].



## 2.12 Controle Estatístico do Processo

A forte concorrência atualmente existente, a par da consistência da qualidade exigida pelos clientes, implica que os processos produtivos sejam estáveis e que operem com um mínimo de variabilidade em torno dos valores alvo ou nominais das características da qualidade. No entanto, grande parte dos processos não cumprem estes requisitos, sendo de extrema importância a implementação de metodologias que permitem controlar o processo [55].

O Controle Estatístico do Processo (CEP) permite monitorizar, reduzir a variabilidade e determinar, a partir de estimativas dos parâmetros do processo, se este é capaz de produzir de acordo com especificações pré-definidas. Para gerir adequadamente um processo numa ótica de melhoria contínua, é fundamental identificar as causas de variação, o que implica a distinção clara entre as causas comuns e causas especiais [55].

As causas comuns são fontes de variação que afetam um processo que está sob controlo estatístico. Estas causas são aleatórias, ou seja, os valores individuais de uma determinada característica são diferentes mas o seu conjunto segue um certo padrão que pode ser descrito por uma distribuição de probabilidade caracterizada por uma determinada forma e por parâmetros de localização e de dispersão. Por outro lado, as causas especiais são causas esporádicas que não se inserem na distribuição seguida por uma característica quando o processo se encontra sob controlo estatístico. Diz-se que um processo está fora de controlo estatístico quando estão presentes causas especiais, as quais provocam, de um modo geral, variações bastantes superiores às provocadas pelas causas comuns [55].

A redução das causas comuns de variação exige, em geral, a decisão de altos níveis de gestão sobre as alterações a que o sistema deve ser sujeito. (mudança de fornecedor, novo equipamento, novos métodos). A deteção e remoção de causas especiais são geralmente feitas por operacionais mais diretamente relacionados com o processo. Sendo causas indesejáveis, é indispensável a sua imediata eliminação quando detetadas [55].

### 2.12.1 Cartas de Controlo

As cartas de controlo permitem detetar as causas especiais quando elas se manifestam, assumindo assim um papel de extrema importância na prevenção da ocorrência de produto não conforme e na redução de custos. As vantagens da implementação das cartas de controlo consistem na prevenção de ocorrência de produto não conforme, na distinção entre causas de variação comuns e especiais, na facilidade de utilização das cartas pelo operador no seu posto de trabalho, na consistência e previsão da qualidade, no menor custo por unidade produzida e na utilização de uma linguagem comum [55].

Uma carta de controlo é definida por um gráfico que mostra a evolução ao longo do tempo de uma estatística referente a uma determinada característica da qualidade. O gráfico possui um limite superior (LSC) e inferior (LIC) de controlo estatístico e a linha central (LC) [55]. Num processo sob controlo estatístico, o padrão deve ser perfeitamente aleatório no intervalo compreendido entre os limites de controlo.

A norma ISO 8258 estabelece os seguintes critérios de decisão em cartas de controlo [56]:

- 1 ponto maior do que 3 desvios padrão a partir da linha central;
- 9 pontos consecutivos no mesmo lado da linha central;

- 6 pontos consecutivos, todos a aumentar ou a diminuir;
- 14 pontos consecutivos, alternando acima e abaixo;
- 2 de 3 pontos consecutivos maiores que 2 desvios padrão a partir da linha central (do mesmo lado);
- 4 de 5 pontos consecutivos maiores que 1 desvio padrão a partir da linha central (do mesmo lado);
- 15 pontos consecutivos dentro de 1 desvio padrão da linha central (qualquer lado);
- 8 pontos consecutivos maior que 1 desvio padrão a partir da linha central (qualquer lado).

Todos os pontos que se encontram fora dos limites de controlo devem ser investigados. Os pontos fora do limite superior de controlo de cartas (média ou mediana e amplitude ou desvio padrão) são uma indicação de deterioração do processo ou de alterações na medição ou registo das amostras. Os pontos fora do limite inferior de controlo das cartas podem ser uma indicação de melhoria no processo [55].

As cartas de controlo podem agrupar-se em duas famílias, as cartas de controlo de variáveis e as cartas de controlo de atributos. As cartas de controlo de variáveis são as cartas de controlo para características que podem ser medidas e expressas numa escala contínua. Para estas características da qualidade, devem ser construídas duas cartas, uma para controlar o parâmetro localização e outra para controlar o parâmetro dispersão da população [55].

No entanto, existem características que não podem ser medidas numa escala contínua e assumem apenas valores discretos, como unidades de produto não conforme ou número de defeitos. Neste caso constrói-se as cartas de atributos. Dentro das cartas de variáveis e das cartas de atributos, existe um conjunto de cartas a serem aplicadas conforme a natureza das características e a tipologia dos dados. As cartas usadas no controlo estatístico tradicional, para variáveis ou atributos, são apresentadas na Tabela 2.13 [55].

**Tabela 2.13 - Tipos de cartas de controlo [55].**

Cartas de Controlo	
Variáveis	Média e Amplitude – Carta $\bar{X}$ e Carta R
	Média e Desvio Padrão – Carta $\bar{X}$ e Carta S
	Média e Variância – Carta $\bar{X}$ e Carta $S^2$
	Mediana e Amplitude – Carta $\tilde{X}$ e Carta R
	Observações Individuais e Amplitudes Móveis – Carta $\bar{X}$ e Carta MR
Atributos	Proporção de unidades não conforme – Carta $p$
	Número de unidades não conforme – Carta $np$
	Número de defeitos – Carta c
	Número de defeitos por unidade – Carta u

Na Tabela 2.14 pode-se observar todas as fórmulas necessárias para efetuar o cálculo dos limites de controle de todas as cartas de controle de variáveis.

**Tabela 2.14 - Resumo dos limites das cartas de controle de variáveis – parâmetro do processo [55].**

Cartas de Controle		Limite Inferior de Controle (LIC)	Linha Central (LC)	Limite Superior de Controle (LSC)
<b>Carta <math>\bar{X}</math> e Carta R</b> <b>Média e Amplitude</b>	Carta $\bar{X}$	$\bar{\bar{X}} - A_2 \bar{R}$	$\bar{\bar{X}}$	$\bar{\bar{X}} + A_2 \bar{R}$
	Carta R	$D_3 \bar{R}$	$\bar{R}$	$D_4 \bar{R}$
<b>Carta <math>\bar{X}</math> e Carta S</b> <b>Média e Desvio Padrão</b>	Carta $\bar{X}$	$\bar{\bar{X}} - A_3 \bar{S}$	$\bar{\bar{X}}$	$\bar{\bar{X}} + A_3 \bar{S}$
	Carta S	$B_3 \bar{S}$	$\bar{S}$	$B_4 \bar{S}$
<b>Carta <math>\bar{X}</math> e Carta <math>S^2</math></b> <b>Média e Variância</b>	Carta $\bar{X}$	$\bar{\bar{X}} - 3 \sqrt{\frac{\bar{S}^2}{n}}$	$\bar{\bar{X}}$	$\bar{\bar{X}} + 3 \sqrt{\frac{\bar{S}^2}{n}}$
	Carta $S^2$	$\frac{\bar{S}^2}{n-1} \chi^2_{(1-\alpha/2); n-1}$	$\bar{S}^2$	$\frac{\bar{S}^2}{n-1} \chi^2_{(\alpha/2); n-1}$
<b>Carta <math>\tilde{X}</math> e Carta R</b> <b>Mediana e Amplitude</b>	Carta $\tilde{X}$	$\tilde{\bar{X}} - \tilde{A}_2 \bar{R}$	$\tilde{\bar{X}}$	$\tilde{\bar{X}} + \tilde{A}_2 \bar{R}$
	Carta R	$D_3 \bar{R}$	$\bar{R}$	$D_4 \bar{R}$
<b>Carta <math>X</math> e Carta MR</b> <b>Observações Individuais e Amplitudes Móveis</b>	Carta $X$	$\bar{X} - \frac{3}{d_2} \overline{MR}$	$\bar{X}$	$\bar{X} + \frac{3}{d_2} \overline{MR}$
	Carta MR	$D_3 \overline{MR}$	$\overline{MR}$	$D_4 \overline{MR}$

## 2.12.2 Índices da Capacidade do Processo

O estudo da capacidade do processo é importante para uma indústria na medida em que possibilita antecipar se o processo em causa é capaz, durante a produção de acordo com as suas especificações, e portanto, permite prever se se mantém a qualidade do mesmo ao longo da produção, permite a redução da variação do processo e ajuda no plano global da melhoria da qualidade.

Pode-se considerar que existem dois tipos de índice de capacidade, o Cp e o Cpk.

O Cp é um índice mais simples que considera uma taxa de tolerância à variação do processo, não considera a centralização do processo e indica que quanto maior for o índice, menos provável é que o processo esteja fora dos limites de especificação. Este índice é utilizado na distribuição normal da maioria dos processos industriais e é plausível de considerar que a variação aceitável para os mesmos é igual a  $6\sigma$ , com  $\sigma$  a representar o desvio padrão do processo. Esta consideração exprime que 99,73% dos valores de uma determinada característica em estudo estão compreendidos entre  $\mu \pm 3\sigma$ , em que  $\mu$  corresponde à média do processo. Caso as variáveis estudadas sigam apenas a

distribuição normal é razoável considerar que o intervalo  $6\sigma$  inclui pelo menos 99% dos valores das amostras [55].

O cálculo do  $C_p$  é realizado através da Equação 2.2, tendo em conta o limite de especificação superior (LSE) e o limite de especificação inferior (LIE).

$$C_p = \frac{LSE - LIE}{6\hat{\sigma}} \quad \text{Equação 2.2}$$

O índice  $C_{pk}$  avalia a capacidade real do processo em cumprir a especificação, pois atende à localização da média do processo, ou seja, considera a centralização do processo. Este índice é um ajuste ao  $C_p$  para uma distribuição não centrada entre os limites de especificação [55]. O índice  $C_{pk}$  é calculado em separado para os dois limites de especificação, o limite de capacidade superior ( $C_{pks}$ ) e o limite de capacidade inferior ( $C_{pki}$ ) como se pode verificar na Equação 2.3 e Equação 2.4.

$$C_{pks} = \frac{LSE - \hat{\mu}}{3\hat{\sigma}} \quad \text{Equação 2.3}$$

$$C_{pki} = \frac{\hat{\mu} - LIE}{3\hat{\sigma}} \quad \text{Equação 2.4}$$

O índice  $C_{pk}$  é o menor destes dois valores ( $C_{pks}$  e  $C_{pki}$ ), ou seja,  $C_{pk} = \min\{C_{pks}, C_{pki}\}$ . Na Tabela 2.15 observa-se as diferentes interpretações face aos diversos valores de índices de capacidade de processo obtidos.

Outro método utilizado para avaliar a capacidade do processo é o histograma. Para realizar um gráfico histograma é necessário calcular o número de classes do histograma ( $k$ ), através da *Regra de Sturges*, tendo em consideração o número de observações ( $N$ ), ver equação 2.5.

$$k = 1 + 3.322 \times \log(N) \quad \text{Equação 2.5}$$

**Tabela 2.15 - Interpretação face aos índices de capacidade de processo [55].**

<b><math>C_p &lt; 1</math></b>	Processo incapaz
<b><math>1 \leq C_p \leq 1,33</math></b>	Processo aceitável
<b><math>C_p &gt; 1,33</math></b>	Processo capaz
<b><math>C_p &lt; 1,33</math></b>	$C_{pks} \neq C_{pki}$ Processo incapaz e descentrado em relação aos limites de especificação
	$C_{pks} = C_{pki}$ Processo incapaz e centrado em relação aos limites de especificação
<b><math>C_p &gt; 1,33</math></b>	$C_{pks} \neq C_{pki}$ Processo capaz mas descentrado
	$C_{pks} = C_{pki}$ Processo capaz mas centrado

Em seguida calcula-se a Amplitude (R) de cada classe, pela seguinte fórmula, sendo considerado o valor máximo ( $X_{máx}$ ) e mínimo ( $X_{mín}$ ) de observações, equação 2.6.

$$R = \frac{(X_{máx} - X_{mín})}{k} \quad \text{Equação 2.6}$$

## 2.13 Análise de Risco na Indústria Farmacêutica

A análise de risco é compreendida com um processo estruturado que identifica um potencial problema, avalia a probabilidade de ocorrência, estima o impacto e sugere medidas para solucioná-lo.

O risco está associado à combinação da probabilidade e da gravidade de um determinado dano. O conceito de risco pode ser subdividido em três partes: o risco para a qualidade, segurança e negócio. Na indústria farmacêutica é fundamental garantir que o produto final possui a qualidade requerida. Assim, o impacto do risco para a qualidade do produto pode ser avaliado pela falta de requisitos de qualidade do mesmo segundo as autoridades responsáveis (INFARMED) [57].

Os riscos relacionados com a segurança devem ser relatados, uma vez que qualquer falha no equipamento ou sistema de suporte pode por em causa a segurança dos operadores e o meio ambiente no setor de fabrico. Por último, é necessário determinar o impacto do risco para o negócio, ou seja avaliar os custos dos componentes a serem reparados, o custo de mão-de-obra extra e a diminuição de produção que leva à diminuição do rendimento e lucro na fábrica [57].

### 2.13.1 Análise de Modo de Falha e Efeito

A análise de modo de falha e efeito (FMEA) é uma metodologia sistemática que permite identificar potenciais falhas de um sistema, projeto e/ou processo com o objetivo de minimizar ou eliminar os riscos associados antes que as falhas aconteçam. É utilizada para uma análise de dados de processo [57].

Uma FMEA pode ser descrita como um grupo sistemático de atividades com o objetivo de reconhecer e avaliar falhas que podem acontecer num produto ou processo (efeitos e causas), identificar as ações que possam eliminar ou reduzir a falha potencial e documentar o processo. A FMEA é constituída por 3 parâmetros, a severidade (S), a ocorrência (O) e a deteção (D). A severidade é o resultado do efeito, ou seja, avalia a situação na operação que sente o efeito potencial da falha. A ocorrência classifica a probabilidade da falha acontecer, considerando os controles de prevenção quando existentes. A deteção classifica qual é a probabilidade de se detetar o modo de falha [58]. Um sistema típico de classificação para Severidade, Ocorrência e Deteção, pode-se verificar na Tabela 2.16.

**Tabela 2.16 - Classificação típica para severidade, ocorrência e deteção [58].**

Peso	Severidade	Ocorrência	Deteção
10	Altamente perigoso	Muito alto: o fracasso é inevitável	Incerteza absoluta
1	Nada perigoso	Remoto: o fracasso é improvável	Quase certeza

Na Tabela 2.17 observa-se a escala de severidade com a descrição e ao valor de peso.

**Tabela 2.17 - Escala de severidade [58].**

<b>Severidade</b>	<b>Descrição</b>	<b>Peso</b>
<b>Muito elevada</b>	Qualquer falha que possa resultar num problema de segurança e/ou que possa originar uma não conformidade dos regulamentos	5
<b>Elevada</b>	Falha grave que possa originar inoperacionalidade do sistema, redução do desempenho ou qualidade do produto	4
<b>Moderada</b>	Falha moderada que origina redução do desempenho ou qualidade do produto	3
<b>Baixa</b>	Falha menor que aparentemente não afeta a qualidade do produto, mas que pode dar origem a reclamações por parte dos clientes.	2
<b>Nenhuma</b>	Falha menor que dificilmente é detetada pelos clientes.	1

Na Tabela 2.18 verifica-se o valor do peso com a sua respetiva descrição referente à escala de probabilidade de ocorrências.

**Tabela 2.18 - Escala de probabilidade de ocorrência [58].**

<b>Ocorrência</b>	<b>Descrição</b>	<b>Peso</b>
<b>Muito elevada</b>	Falha ocorre regularmente e em todos os pontos de produção	5
<b>Elevada</b>	Falha ocorre frequentemente e pode ter impacto significativo na produção, desempenho e qualidade do produto	4
<b>Moderada</b>	Falha ocorre ocasionalmente	3
<b>Baixa</b>	Falha ocorre raramente e quando ocorre não implica problemas na produção	2
<b>Remota</b>	A falha de um componente ou sistema é pouco provável	1

Na Tabela 2.19 é possível visualizar o valor do peso e a descrição referentes à escala de capacidade de deteção.

**Tabela 2.19 - Escala de capacidade de deteção [58].**

<b>Deteção</b>	<b>Descrição</b>	<b>Peso</b>
<b>Nenhuma</b>	Não existem métodos de deteção para prevenir que o produto seja libertado para o mercado.	5
<b>Baixa</b>	Não existem métodos de deteção, no entanto a falha implica que o produto não pode ser utilizado ou libertado para o mercado.	4
<b>Moderada</b>	Existem métodos de deteção indiretos	3
<b>Elevada</b>	Existem métodos de deteção estatísticas para avaliarem as falhas	2
<b>Muito Elevada</b>	Existem métodos de deteção para evitar falhas na totalidade	1

Após definidos os valores de severidade, ocorrência e detecção deve-se calcular o número de prioridade de risco (NPR), ver Equação 2.7.

$$NPR = S \times O \times D \quad \text{Equação 2.7}$$

Quando o NPR é elevado deve-se realizar ações para reduzir severidade, ocorrência ou detecção. Inicialmente reduz-se a severidade ao modificar o projeto de forma a minimizar ou eliminar o efeito de falha, depois reduz-se a ocorrência ao eliminar ou reduzir a causa do efeito e por último reduz-se a detecção ao aumentar a inspeção do processo [59].

A análise de modo de falha e efeito é elaborada de forma a diminuir a probabilidade da ocorrência de falhas em projetos de novos produtos ou processos, a diminuir a probabilidade de falhas potenciais em produtos/processos em operação, para aumentar a confiabilidade de produtos ou processos em operação e para diminuir os riscos de erros no processo [59]. Na Tabela 2.20 pode-se verificar quais os objetivos, aplicações, vantagens e desvantagens referente à FMEA.

Por outro lado a FMEA pode ser ampliada para abranger uma investigação sobre o grau de gravidade das consequências do processo, assim Análise dos Modos de Falha, Efeitos e Criticidade (FMECA), pode identificar os locais de ações preventivas adicionais para minimizar riscos, utilizando um critério adicional, a criticidade (C) [59].

**Tabela 2.20 - Resumo de FMEA [60].**

Objetivos	Aplicações	Vantagens	Desvantagens
Identificar, analisar e prevenir as falhas potenciais, os efeitos e as causas	Produtos, processos, instalações e sistemas	Elevada flexibilidade e ferramenta prospectiva	Não é útil para sistemas complexos

### 2.13.2 Estudo de Perigos Operacionais

O estudo de perigos operacionais (HAZOP) baseia-se na teoria que pressupõe que eventos de risco são causados por desvios da concepção ou intenções de funcionamento. É uma técnica de criatividade sistemática para identificar perigos. Geralmente utiliza uma equipa de pessoas com competências que abrangem a concepção do processo ou produto e respetiva aplicação. Também tem sido usada principalmente na indústria farmacêutica para avaliar os perigos de segurança do processo.

Uma vez verificadas as causas e as consequências de cada tipo de desvios, esta técnica procura propor medidas para eliminar, mitigar ou controlar em níveis aceitáveis de risco e problema de operabilidade da instalação. É uma técnica estruturada em palavras guias, desvios, causas, consequências e recomendações sendo a técnica mais formalizada em termos de metodologia é necessário experiência e conhecimento na aplicação da técnica para uma análise de processo de projetos [61]. Na Tabela 2.21 pode-se verificar uma síntese de alguns parâmetros referentes ao estudo de perigos operacionais.

**Tabela 2.21 - Resumo HAZOP [60].**

Objetivos	Aplicações	Vantagens	Desvantagens
Aumentar a segurança do processo	Instalação e equipamentos	Aumentar o conhecimento do processo e centrar as análises nas áreas de maior risco	Técnica qualitativa e é muito dependente da informação disponível

### 2.13.3 Análise de Árvore de Falha

A análise de árvore de falha (FTA) é uma técnica analítica de confiabilidade e de segurança para sistemas complexos, principalmente em sistemas que têm múltiplas causas potenciais. Trata-se de um método que permite descobrir a causa de uma determinada falha, permitindo atuar de forma preventiva [62].

A FTA é uma boa ferramenta retrospectiva uma vez que por meio do desdobramento gráfico de uma série de acontecimentos pode dar origem a um acontecimento indesejável o que permite a identificação dos recursos necessários para prevenir tais acontecimentos [63]. Na Tabela 2.22 é possível visualizar uma síntese de alguns parâmetros referentes à FTA.

**Tabela 2.22 - Resumo FTA [60].**

Objetivos	Aplicações	Vantagens	Desvantagens
Identificar as causas de uma falha	Investigação de reclamações e desvios	Gráfico de uma cadeia de acontecimentos e técnica retrospectiva	Enfoque limitado e a qualificação dos resultados requer de uma experiência

### 2.13.4 Análise de Perigos e Controlos de Pontos Críticos

A Análise de Perigos e Controlos de Pontos Críticos (HACCP) é uma ferramenta sistemática, proactiva e preventiva para assegurar a qualidade, confiabilidade e segurança do produto. É uma abordagem estruturada que aplica princípios técnicos e científicos para analisar, avaliar, prevenir, e controlar o risco ou a consequência adversa do perigo resultante da concepção, desenvolvimento, produção e uso de produtos [63].

A HACCP consiste nas seguintes etapas: realizar uma análise dos perigos e identificar medidas preventivas para cada etapa do processo; determinar os pontos críticos de controlo; estabelecer limites críticos; estabelecer um sistema para monitorizar os pontos críticos de controlo; estabelecer ações corretivas a serem adotadas quando a monitorização indica que os pontos críticos de controlo não se encontram controlados; estabelecer um sistema para verificar que o sistema HACCP está a funcionar de forma eficaz e estabelecer um sistema de manutenção de registos [63].

Na Tabela 2.23 é possível visualizar um resumo a alguns parâmetros referentes à HACCP.



**Tabela 2.23 - Resumo HACCP [60].**

<b>Objetivos</b>	<b>Aplicações</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
Definir pontos críticos de um processo e converte-los em pontos de monitorização	Todas as etapas do processo	Estabelecer um sistema para se obter um produto com qualidade baseado na prevenção	Não deve ser aplicado em novos processos ou em processos com poucos dados históricos





## Metodologia

No presente capítulo será abordado a metodologia utilizada para a realização da qualificação do setor de fabrico de soluções injetáveis. Antes de se iniciar a recolha de informação acerca do funcionamento e do histórico de dados de monitorizações do setor que se pretendia qualificar, procedeu-se à recolha de informações bibliográficas de forma a adquirir os conhecimentos necessários, acerca da instalação, equipamentos, sistemas de suporte e pontos críticos que podem interferir no fabrico de medicamentos estéreis.

### 3.1 Classificação das Salas Limpas

Para se poder classificar as diversas áreas do setor de soluções injetáveis é necessário realizar vários tipos de testes. Segundo a ISO 14644 - Parte 1 é necessário um ensaio de contagem de partículas não viáveis de ar. Para os parâmetros de temperatura, humidade relativa, integridade dos filtros HEPA, taxas de renovação do ar e a pressão diferencial entre as salas devem ser seguidos os requisitos da ISO 14644 - Parte 3.

Estes testes são realizados semestralmente a fim de se obter um controlo restrito da esterilidade deste setor, e por isso no âmbito deste trabalho foi realizada uma análise do histórico destes dados de modo a comprovar a existência de uma melhoria na qualidade do setor.

Com a elaboração da tese na empresa Laboratórios Vitória, foi possível acompanhar os testes do segundo semestre do ano 2015 realizados em parceria com empresa TRADE LABOR, onde foi analisada individualmente cada sala limpa dentro do setor de soluções injetáveis.

O teste de contagem de partículas em suspensão no ar serve para certificar que a instalação, nas condições como construída, em repouso ou operacional, atende as classes de classificação ISO das salas limpas. A contagem de partículas é realizada por um contador de partículas de aerossol (*Lasair III 5100*) devidamente calibrado e em concordância com a norma da ISO 21501 - Parte 4.

O teste de velocidade e caudal de fluxo de ar é realizado através de um instrumento de balanceamento de ar eletrónico (*ProHood*) corretamente calibrado e serve para verificar se os valores médios estão dentro das especificações. O teste de integridade de filtros HEPA utiliza aerossóis com o intuito de confirmar se os filtros estão devidamente instalados e que não existe nenhum vazamento. O teste de diferencial de pressão entre salas é realizado através de um micromanómetro e serve para verificar que os valores de pressão definidos estão de acordo com as especificações. O teste de renovação de ar por hora tem como objetivo verificar se as trocas estabelecidas são realizadas de acordo com a classificação das salas limpas.

Os testes de temperatura e humidade relativa consistem em recolher os valores de minuto em minuto durante 1 hora através de um termohigrómetro e verificar se estes valores estão dentro do intervalo de especificações.

## **3.2 Controlo Microbiológico no Setor de Soluções Injetáveis**

Foi realizada uma análise histórica da monitorização ambiental que tem como objetivo detetar os microrganismos existentes no processo de fabrico, de forma a garantir a qualidade do produto quando este é fabricado em condições assépticas.

Este estudo incluiu trabalho laboratorial que passou pela recolha de amostras no setor de soluções injetáveis com o intuito de verificar a ocorrência de contaminações e quais as espécies de microrganismos mais frequentes nas amostragens. Este estudo vai permitir identificar as possíveis fontes de contaminação existentes no processo de fabrico de soluções injetáveis.

### **3.2.1 Controlo Microbiológico do Ar**

Os microrganismos transportados pelo ar estão frequentemente associados a partículas de 10 µm a 20 µm. As monitorizações microbianas variam de acordo com o local de amostragem e as atividades que estão a ser realizadas durante a amostragem.

#### **3.2.1.1 Método de sedimentação em placa de Petri (amostragem passiva)**

As placas de sedimentação podem detetar bactérias e fungos presentes na coluna de ar acima da placa de Petri de 90 mm de diâmetro com meio *Tryptic Soy Agar* e devem ser colocadas o mais próximo possível do local onde o produto se encontra exposto, sem causar obstrução de atividades ou contaminação do produto pelas próprias placas. Este método é apenas utilizado em zonas classificadas como classe A (fluxo laminar), e tendo como limite de ação <1 UFC/placa, ou seja, não pode existir crescimento microbiano dentro do fluxo laminar. A amostragem é realizada sempre que existe fabrico.

#### Procedimento

1. Antes de proceder à exposição das placas de Petri, estas devem permanecer sob uma lâmpada UV durante 1 hora;
2. Expor 5 placas de Petri, com meio de cultura TSA, abertas e colocadas em diferentes pontos na área de fluxo laminar durante o processo de fabrico (filtração e enchimento). Nas situações onde a duração do processo for superior a 4 horas, as 5 placas de exposição devem ser trocadas por um novo conjunto de 5 placas;
3. No final do processo, avisar o laboratório de microbiologia para recolher e incubar as placas a 30°C - 35°C, durante 5 dias.

#### **3.2.1.2 Método volumétrico (amostragem ativa)**

Este método consiste na aspiração de um determinado volume de ar para placas de Petri de 90 mm de diâmetro, com meio de cultura *Tryptic Soy Agar* com o auxílio de um coletor de ar.

Nas salas de classe C e D recolhe-se 500 L de ar tendo como limite de alerta 100 UFC/m<sup>3</sup> e limite de ação 200 UFC/m<sup>3</sup>. A frequência de amostragem é semanal e mensal, para as salas de classe C e D, respetivamente.

A recolha de amostras na sala de classe B é realizada pela recolha de 1000 L de ar, sendo o limite de alerta de 5 UFC/m<sup>3</sup> e o limite de ação de 10 UFC/m<sup>3</sup>. Nas zonas de classe A, localizada no interior da sala de classe B, recolhe-se 1000 L de ar e apenas detém o limite de ação de <1 UFC/m<sup>3</sup>. A amostragem das zonas de classe B e A é realizada sempre que existe fabrico.

#### Procedimento

1. Antes de proceder à recolha volumétrica de ar, o coletor de ar, deverá ser colocado sob uma lâmpada UV durante 1 hora;
2. O período de tempo é predefinido pelo equipamento, sendo a correspondência de cerca de 100 L de ar sugado por minuto;
3. No fim do processo, desinfetar o equipamento com álcool isopropílico a 70° e avisar o laboratório de microbiologia para recolher e incubar as placas a 30°C - 35°C, durante 5 dias.

### **3.2.2 Controlo Microbiológico de Superfícies**

As superfícies englobam as superfícies normais de trabalho (bancada, parede e chão) e as superfícies em contacto com o produto (equipamentos).

#### **3.2.2.1 Método das placas de contacto**

Este ensaio é efetuado em condições normais de trabalho e incidirá nas superfícies de contacto indireto com produto a ser fabricado. O ensaio é efetuado após o termo dos trabalhos. É realizado através de placas de contacto (Rodac) com 57 mm de diâmetro.

Nas salas de classe C e D, a amostragem realiza-se mensalmente. Na sala de classe C, o limite de alerta é de 12 UFC/25 cm<sup>2</sup> e o limite de ação 25 UFC/25 cm<sup>2</sup> e na sala de classe D, o limite de alerta é 25 UFC/25 cm<sup>2</sup> e o limite de ação de 50 UFC/25 cm<sup>2</sup>. Nas salas de classes B, a amostragem realiza-se semanalmente, tendo o limite de alerta 2 UFC/25 cm<sup>2</sup> e o limite de ação de 5 UFC/25 cm<sup>2</sup>.

#### Procedimento

1. Abrir a placa e pressiona-la levemente, utilizando o aplicador *Count-tact* durante 10 s, na superfície que pretender testar;
2. Lavar a superfície testada com uma solução de álcool isopropílico a 70°;
3. Após o final do processo avisar o laboratório de microbiologia para recolher e incubar as placas durante 5 dias a 30°C- 35°C.

### **3.2.3 Controlo Microbiológico de Impressão de luva**

Este ensaio é efetuado em condições normais de trabalho, isto é, durante a produção de um lote, e incidirá nos operadores que manipulam diretamente o produto a ser fabricado (ou em outros colaboradores que tenham entrado na seção). O ensaio é efetuado após o termo dos trabalhos ou dos turnos. Este método está direcionado para a impressão da luva, uma vez que as mãos dos operadores estão sempre em contato com o produto/processo e por isso são a maior fonte de contaminação.

A amostragem realiza-se sempre que existe fabrico nas salas de filtração e enchimento. O limite de alerta e ação é de 3 UFC/luva e 5 UFC/luva, respetivamente. Estes limites são referentes ao resultado médio das mãos por operador. Realiza-se também a amostragem quando existe produção na sala de preparação, mas os limites de alerta e ação não são definidos, os resultados desta monitorização são meramente informativos acerca do estado de higiene das luvas dos preparadores.

#### Procedimento

1. Utilizar placas de contacto (Rodac) com 57 mm de diâmetro, tendo como meio de cultura o TSA;
2. Abrir a placa (uma por cada mão) e pressione-a levemente, utilizando o aplicador Count-tact durante 10 segundos, em cada contato, na superfície que pretende testar (luvas - palma e 5 dedos dos operadores), como se pode ver na Figura 3.1;
3. Após a amostragem, avisar o laboratório de microbiologia, para recolher e incubar as placas durante 5 dias entre 30°C e 35°C.

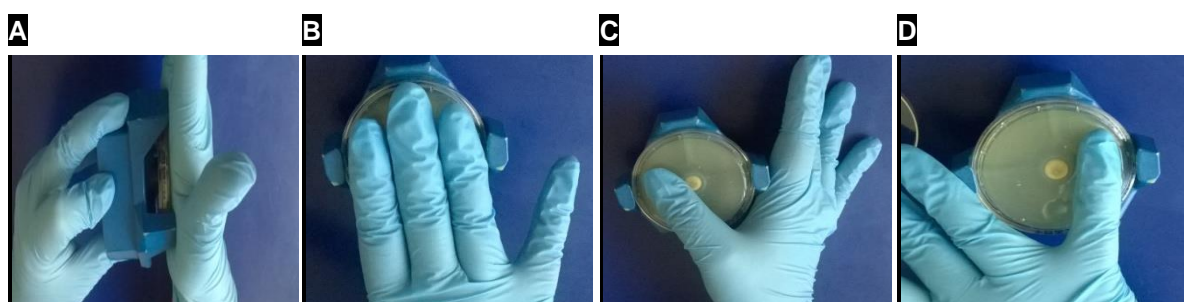


Figura 3.1 - Método de amostragem de impressão de luva.

### 3.3 Promoção e Inibição de Crescimento de Microrganismos

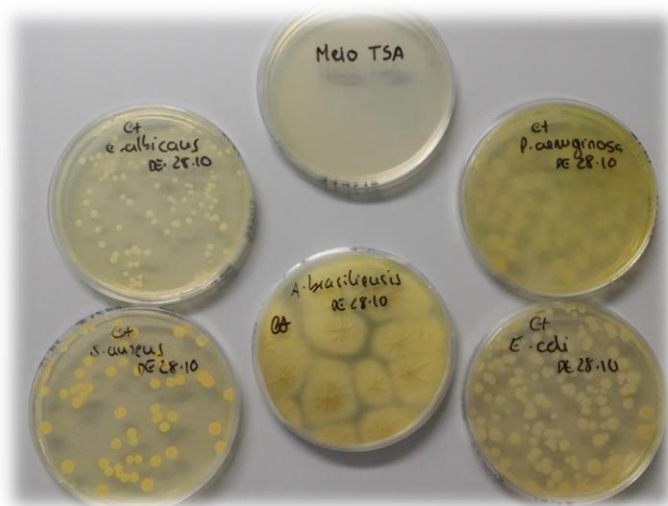
Com o objetivo de verificar se os meios de cultura eram seletivos para as espécies de microrganismos a identificar foram realizados os testes de promoção de crescimento (PC) e inibição de crescimento (IC). Estes testes foram realizados para três meios de cultura que estão identificados na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Promoção e inibição de crescimento do meio de cultura TSA, Cet e VRBA.

Meios de cultura	Teste	Microrganismos						Temperatura de Incubação	Duração
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Tryptic Soy Agar (TSA)	PC	X		X			X	30-35°C	≤ 3 dias
					X	X			≤ 5 dias
Cetrimida Agar (Cet)	PC						X		≤ 18 h
	IC		X						≥ 72 h
Violet Red Bile Glucose Agar (VRBA)	PC		X				X		≤ 18 h
	IC	X							≥ 24 h

O meio TSA promove o crescimento de bactérias *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa* e fungos *Candida albicans* e *Aspergillus brasiliensis*. Os meios Cet e VRBA promovem o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa* e Coliformes, respetivamente.

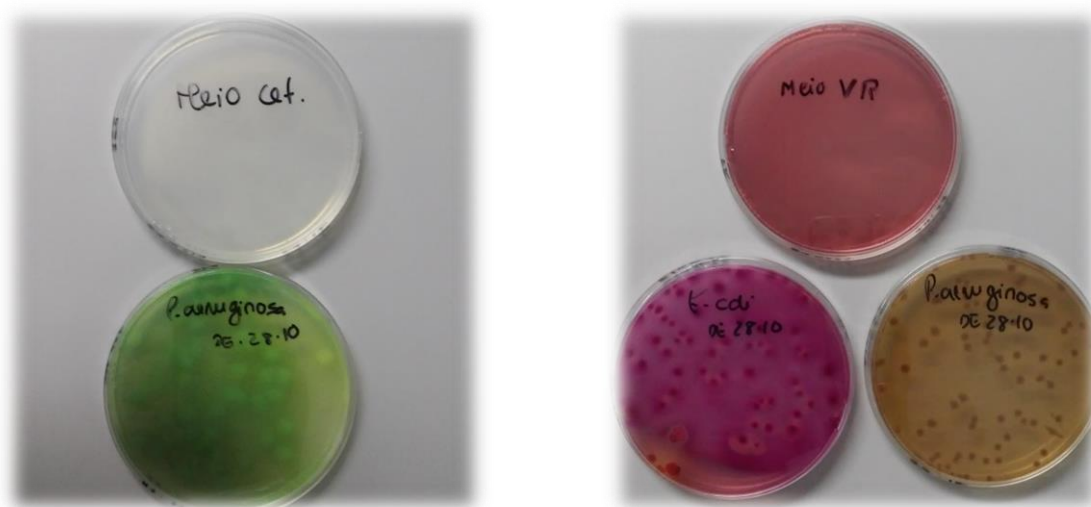
O meio de cultura TSA é um meio geral rico em triptona e peptona que vai permitir o desenvolvimento de diversos tipos de microrganismos (Figura 3.2).



**Figura 3.2 - Teste de promoção e inibição de crescimento de microrganismos no meio TSA.**

O Cetrimida Agar (Cet) é um meio seletivo e diferencial que na presença da bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, apresenta com uma coloração verde. O Violet Red Bile Glucose Agar (VRBA) é um meio seletivo para as bactérias gram negativas, nomeadamente a *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Na Figura 3.3 verifica-se que tanto o meio Cet como o meio VRBA permitem a identificação dos microrganismos de acordo com a Tabela 3.1.



**Figura 3.3 - Teste de promoção e inibição de crescimento de microrganismos no meio Cet e VRBA.**

### 3.4 Auditoria Interna ao Setor de Injetáveis

Através das ISO 14698 - *Cleanrooms and associated controlled environments - Biocontamination control*, ISO 14644 - *Cleanrooms and associated controlled environments* e ISO 13408 - *Aseptic processing of health care products* foi realizado uma *check list*, de forma a identificar algumas situações propícias a melhorias e proposto uma otimização do *layout* para o setor de injetáveis.

### 3.5 Análise de Risco do Processo

Com o objetivo de estudar as fontes críticas e contaminações referentes ao processo de fabrico de soluções injetáveis foram efetuadas análises de risco para a simulação de processo (*Media Fill*) e para os pontos de amostragem de monitorizações ambientais. Estas análises vão permitir o conhecimento dos diversos fatores que podem contaminar o fabrico de soluções injetáveis e verificar se os métodos de recolha de amostras são suficientes para cada classe de salas limpas. Na Figura 3.4 é possível observar um fluxograma referente ao procedimento do *Media Fill*.

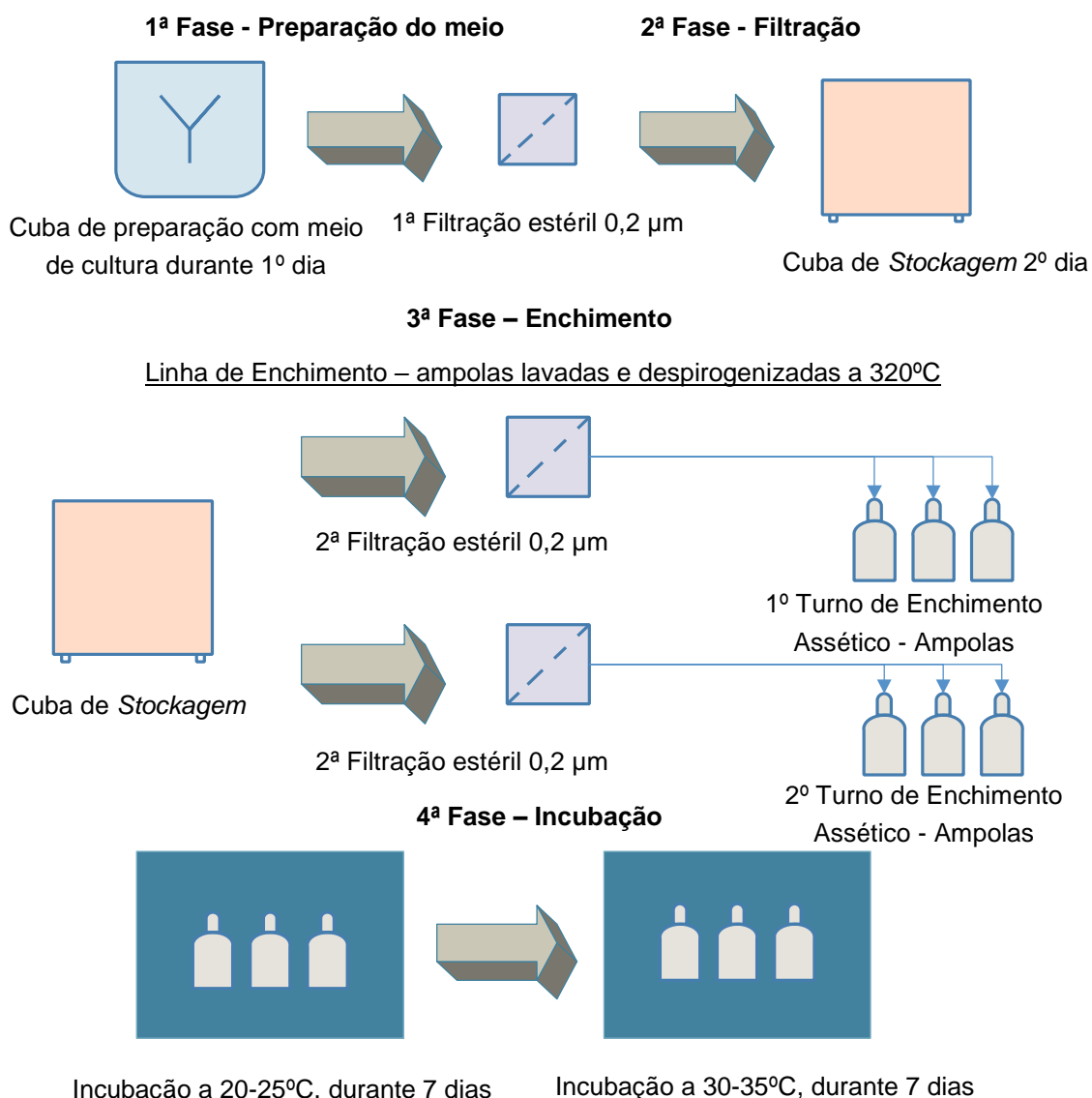


Figura 3.4 - Fluxograma do processo *Media Fill*.



### 3.5.1 Análise de Risco de *Media Fill*

O *Media Fill* tem como objetivo a validação do desempenho do processo de produção de soluções injetáveis de pequeno volume (SVP) por enchimento assético, aplicando o princípio de *worst case*. Simula todas as etapas de um processo de fabrico, desde a receção das matérias-primas, a fase de preparação da solução, a fase da filtração e *stockagem* da solução, e por fim, o enchimento assético.

A escolha dos parâmetros mais apropriados para caraterizar o desempenho dos processos de produção provêm de uma análise de risco de modo e efeito de falha (FMEA) tendo como principal objetivo garantir a qualidade do produto final. Assim, avaliou-se as potenciais falhas dos processos (reprovação do produto em virtude do não cumprimento das especificações pré-definidas) em função da influência de diferentes variáveis.

Foi proposta e utilizada a escala numérica para a avaliação da Severidade (S), Ocorrência (O) e Detecção (D), descritas na Tabela 3.2, Tabela 3.3 e Tabela 3.4, sucessivamente.

**Tabela 3.2 - Severidade - descrição e peso.**

Severidade	Descrição	Peso
Muito elevada	Qualquer falha que possa resultar num problema de segurança ou que possa originar uma não conformidade dos requisitos do produto	10
Elevada	Falha grave que possa originar inoperacionalidade do sistema, redução do desempenho ou qualidade do produto	7
Moderada	Falha que origina redução do desempenho ou qualidade do produto	4
Baixa	Falha que aparentemente não afeta a qualidade do produto, mas que pode originar reclamações dos clientes	1

**Tabela 3.3 - Ocorrência - descrição e peso.**

Ocorrência	Descrição	Peso
Muito elevada	Falha regular em todos os pontos de produção	10
Elevada	Falha frequente e que pode ter impacto significativo na produção, desempenho e qualidade do produto	7
Moderada	Falha ocasional	4
Baixa	Falha rara que não implica problemas na produção	1

**Tabela 3.4 - Detecção - descrição e peso.**

Detecção	Descrição	Peso
Muito elevada	Técnicas de deteção para evitar totalidade de falhas	1
Elevada	Técnicas de deteção para a maioria de falhas	4
Moderada	Técnica de deteção indireta	7
Baixa	Técnica de deteção pouco eficiente ou inexistente	10

O número de prioridade de risco (NPR) é obtido através do produto das pontuações dos parâmetros ocorrência, severidade e detecção. Quanto maior for o valor de NPR maior será o risco/impacto para o produto final. Na Tabela 3.5 verifica-se o nível de ações requeridas para os valores de NPR correspondentes.

Para valores de NPR superiores a 70 ou que o modo potencial do erro pela sua severidade implique a rejeição de lote / reprocessamento do produto serão tomadas medidas de ação com o objetivo de eliminar ou reduzir a 50% a probabilidade de ocorrência de falha.

**Tabela 3.5 - Intervalos dos valores de NPR e o tipo de ação associado.**

NPR	Tipo de ação
0 - 40	Sem medidas de ação requeridas
41 - 70	Decisão caso a caso
71 - 200	Definir medidas de ação
200 - 1000	Medidas de ação obrigatórias

### 3.5.2 Análise de Risco de Pontos de Amostragem

Com o intuito de verificar se os pontos de amostragem eram suficientes em cada sala limpa do setor de injetáveis foi realizada uma análise de risco. Nesta análise consideraram-se quatro fatores de risco. O fator A é referente à contaminação microbiana existente na fonte, o fator B que está associado à facilidade de dispersão e de transferência de contaminações, o fator C que relaciona a proximidade entre a fonte de contaminação e o produto e o fator D que identifica a capacidade dos meios utilizados para controlar a contaminação.

Na Tabela 3.6 é possível verificar o peso associado a cada fator de risco utilizado na análise de risco referente aos pontos de amostragem.

**Tabela 3.6 - Descrição do peso do Fator de Risco.**

Fator de Risco	Fator A	Fator B	Fator C	Fator D
0,5	Nulo	Nulo	Remoto	Barreira física
1	Baixo	Baixo	Zona não limpa	Muito controlo
1,5	Médio	Médio	Zona limpa	Algum controlo
2	Elevado	Elevado	Área crítica	Sem controlo

Na Tabela 3.7 está discriminado o peso de fator atribuído a cada classe de sala limpa no setor de injetáveis.

**Tabela 3.7 - Descrição do peso das Classes de Salas Limpas.**

Classes da Salas	Fator A	Fator B	Fator C	Fator D
Classe A	0,5	2	2	2
Classe B	1	1.5	1.5	1.5
Classe C	1,5	1	1.5	1
Classe D	2	0.5	1	0.5

O risco de contaminação de cada sala limpa é calculado na seguinte forma, ou seja, através da multiplicação dos quatro fatores de risco associados.

$$\text{Risco de contaminação} = A \times B \times C \times D \quad \text{Equação 3.1}$$

Para saber qual é o valor de índice de criticidade, para posterior cálculo de pontos de amostragem, é necessário verificar na Tabela 3.8 o índice de criticidade associado ao risco de contaminação.

**Tabela 3.8 - Valor do Índice de Criticidade em relação ao risco de contaminação.**

Risco de contaminação	Descrição	Índice de Criticidade
<1	Risco baixo	1
1-3	Risco moderado	1,5
>3	Risco elevado	2

Com o intuito de conhecer o número de amostragens para controlo de superfície (N) necessárias a realizar em cada sala limpa do setor de injetáveis procede-se ao cálculo através da Equação 3.2.

$$\text{Amostras para controlo de superfície (N)} = \sqrt{\text{Área}} \times \text{Índice de Criticidade} \quad \text{Equação 3.2}$$

Para obter o número de amostragens necessárias para efetuar o controlo de ar (P) é necessário realizar o cálculo segundo a Equação 3.3.

$$\text{Amostras para controlo do ar (P)} = \sqrt[3]{\text{Volume}} \times \text{Índice de Criticidade} \quad \text{Equação 3.3}$$

### 3.6 Produto Worst Case

Com o objetivo de conhecer as falhas e contaminações do processo de produção de soluções injetáveis foi realizada uma análise a diversos parâmetros processuais em todos os produtos fabricados neste setor, tanto para produto de processo assético como para produtos de esterilização final.

Apesar do produto de processo assético ser mais crítico que o produto sujeito a esterilização final foi necessário conhecer o produto que está mais sujeito a contaminações dentro de cada processo de fabrico. Assim efetuou-se uma comparação entre todos os produtos de processo assético e todos os produtos de esterilização final. Esta identificação do produto mais propício a contaminação vai permitir que se estabeleça algumas ações corretivas de forma a melhorar o processo de fabrico destas soluções injetáveis.

### 3.7 Controlo Estatístico do Processo

Para reduzir a variabilidade de alguns parâmetros do processo, recorre-se à utilização de cartas de controlo. A aquisição de dados é efetuada através do *software* AKIVISION. Este *software* está perfeitamente desenvolvido para monitorizar as condições de circulação do ar. Assim, é adequado para realizar a monitorização e o controlo dos parâmetros de ar do processo, ou seja, a temperatura, humidade relativa e diferencial de pressão do ar.

As cartas mais apropriadas para a análise dos valores ambientais são a carta da média e a carta do desvio padrão, uma vez que permitem verificar se a dispersão dos pontos dos parâmetros ambientais é suficiente para cumprir as especificações.

A média ( $\bar{X}$ ) e o desvio padrão ( $S_i$ ) da amostra são calculados na seguinte forma:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{j=1}^n x_j}{n} \quad \text{Equação 3.4}$$

$$S_i = \sqrt{\frac{\sum (x_j - \bar{X})^2}{n-1}} \quad \text{Equação 3.5}$$

Para o cálculo dos limites de controlo, a média global ( $\bar{\bar{X}}$ ) e o desvio padrão médio ( $\bar{S}$ ) são obtidos desta forma:

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\sum_{i=1}^n \bar{X}}{n} \quad \text{Equação 3.6}$$

$$\bar{S} = \frac{\sum_{i=1}^n S_i}{n} \quad \text{Equação 3.7}$$

Os limites de controlo superior e inferior são calculados através das expressões descritas na Tabela 3.9.

**Tabela 3.9 - Limites de controlo das cartas de controlo escolhidas.**

Carta $\bar{X}$ e Carta S Média e Desvio Padrão	Carta $\bar{X}$	$\bar{\bar{X}} - A_3 \bar{S}$	$\bar{\bar{X}}$	$\bar{\bar{X}} \mp A_3 \bar{S}$
	Carta S	$B_3 \bar{S}$	$\bar{S}$	$B_4 \bar{S}$

Apenas se considerou a regra de que o ponto não pode estar a mais do que 3 desvios padrão a partir da linha central, uma vez que ao aplicar as restantes regras iria aumentar muito o número de possíveis falsos alarmes (sinalização incorreta da incidência de causas especiais sobre o processo), e reduzir o indicador de desempenho das cartas de controlo.

Esta análise teve uma duração de quatro meses (setembro a dezembro de 2015). Como cada dia tinha cerca de 24 amostragens, dividiu-se o dia em 3 turnos (manhã, almoço e tarde) para uma melhor análise. Assim o número de amostras é de 6 pontos.

Para  $n=6$ , temos que,  $A_3 = 0,957$ ,  $B_3 = 0,284$ ,  $B_4 = 1,716$  e  $C_4 = 0,9515$  (ver a tabela dos fatores de construção de cartas de controle no Anexo A.2).

O desvio-padrão utilizado nos cálculos dos índices de capacidade do processo é calculado através da Equação 3.8.

$$\hat{\sigma} = \frac{\bar{s}}{C_4} \quad \text{Equação 3.8}$$

No controle estatístico do processo apenas se realizou a primeira fase, ou seja, reuni um conjunto de observações sob controle estatístico de forma a estabelecer os limites de controle para a fase posterior que consiste na monitorização futura da produção. Como nem todas as cartas estavam estatisticamente controladas foi necessário realizar histogramas de forma a demonstrar a tendência dos parâmetros ambientais.



## Resultados e Discussão

### 4.1 Classificação das Salas Limpas

O grande objetivo desta dissertação consiste em verificar se o setor de injetáveis está conforme as normativas reguladoras, por isso iniciou-se uma verificação histórica da classificação das salas limpas dentro deste setor. Na Tabela 4.1 é possível verificar que todas as salas limpas dentro da zona crítica do setor de soluções injetáveis têm uma classificação igual ou superior à classificação pretendida.

A sala de preparação e zona de lavagens deixou de existir com a realização de obras dentro do setor, permitindo o aparecimento de duas novas salas, a sala de preparação e sala de lavagens em separado de forma a evitar contaminações.

**Tabela 4.1 - Dados históricos de classificação de salas limpas dentro da zona crítica.**

Secção de Injetáveis		2013		2014		2015		Classe pretendida
Equipamento / Área	Localização	1º Semestre	2º Semestre	1º Semestre	2º Semestre	1º Semestre	2º Semestre	
Fluxo laminar do Túnel de Despirogenização	Zona Crítica	Classe A	Classe A	-	Classe A	Classe A	Classe A	Classe A
Fluxo laminar da Sala de Filtração		Classe A	Classe A	-	Classe A	Classe A	Classe A	Classe A
Fluxo laminar da Máquina de Enchimento		Classe A	Classe A	-	Classe A	Classe A	Classe A	Classe A
SAS de Saída do vestiário		Classe C	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe C
Corredor interno		Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe C
Sala de preparação e Zona de lavagens		Classe B	Classe C	-	-	-	-	
Sala de preparação		-	-	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe C
Sala de lavagem		-	-	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	
Sala de filtração		Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B
Sala de enchimento		Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B	Classe B

Na Tabela 4.2 é possível verificar que, todas as salas limpas têm a classificação pretendida exceto o vestiário que no segundo semestre de 2015 tem uma classificação superior ao pretendido. Isto significa que o vestiário tem ótimas condições uma vez que não é propício a contaminações. A classificação de salas limpas indica que o setor de soluções injetáveis está operacional para a realização de fabrico de produtos estéreis.

**Tabela 4.2 - Dados históricos de classificação de salas limpas dentro da zona não crítica.**

Secção de Injetáveis		2013		2014		2015		Classe pretendida
Equipamento / Área	Localização	1º Semestre	2º Semestre	1º Semestre	2º Semestre	1º Semestre	2º Semestre	
SAS de acesso ao vestiário	Zona Não Crítica	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C
Vestiário		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe B	Classe C
Sala de transferência de ampolas		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C
Sala de verificação de ampolas		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe D
SAS de acesso à secção de injetáveis		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe D
Sala de lavagem de ampolas		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C
SAS armazém de ampolas/sala de lavagem de ampolas		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe D
Receção/armazém de ampolas		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe D
SAS receção/armazém de ampolas		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe D
SAS de acesso ao vestiário		Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C	Classe C

## 4.2 Controlo Microbiológico

### 4.2.1 Análise de contaminações em diferentes fases de fabrico

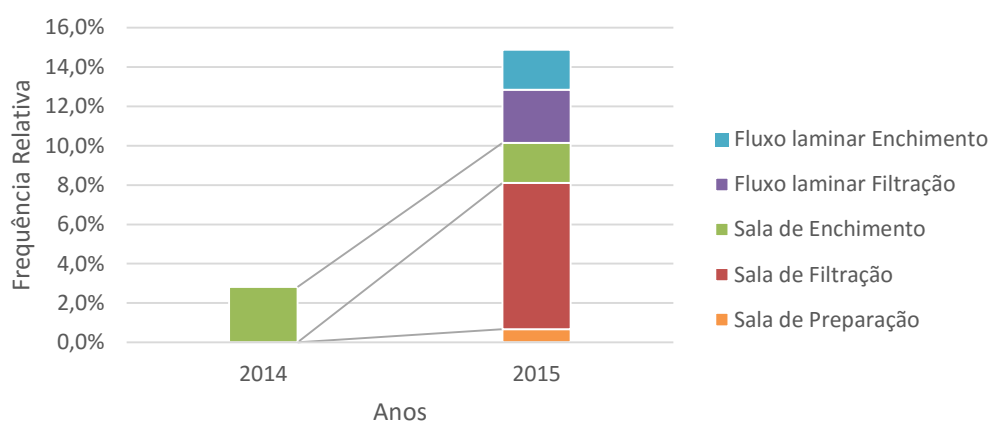
Através da análise dos dados históricos foi possível contabilizar o número de vezes que os resultados estavam com parâmetros superiores em relação aos limites de ação estabelecidos. Posteriormente foi possível verificar e comparar o número de ocorrências em dois anos consecutivos (2014 e 2015) que pode ser consultado no Anexo A.3. Este controlo microbiológico permitiu verificar que no total das amostragens efetuadas apenas se registaram 10% de amostras contaminadas, o que indica que 90% dessas amostras cumpriam todas as condições necessárias ao processo de fabrico de soluções injetáveis.

Na Figura 4.1 referente ao ano 2015 é possível verificar, com a análise de controlo microbiológico do ar, que foi um ano com registo de maiores contaminações, tanto em ocorrências como em número de fases do processo de produção, em comparação com o ano 2014. Isto pode ser explicado através da mudanças da localização dos pontos de controlo microbiológico ou pelo facto de



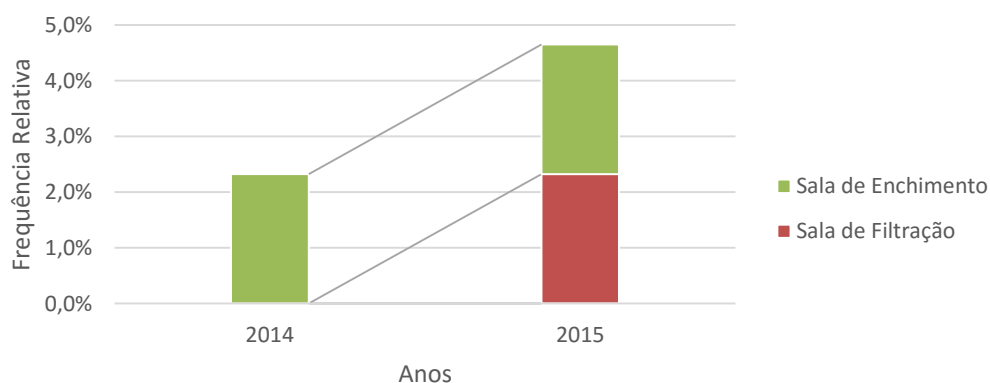
serem as analistas do controlo de qualidade a efetuarem as monitorizações em 2015. Em 2014 eram os operadores que realizavam as monitorizações de controlo microbiológico e tal poderá tendencialmente condicionar as praticas de pré-amostragem.

Em 2014 verificou-se que 97,2% das amostras efetuadas não identificaram nenhuma contaminação e em 2015 verificou-se o mesmo com 85,1%, havendo assim um desvio de 12% em relação ao ano anterior. Assim, em 2014 apenas se verificou a ocorrência de contaminações em cerca de 2,8% de todas análise realizadas e estas contaminações verificaram-se somente na fase de enchimento. Isto indica que o número de partículas na amostra de ar era superior a 10 UFC/m<sup>3</sup>, ou seja era superior ao limite de ação estabelecido. No ano 2015, também se verificou ocorrência de contaminações na sala de enchimento (2,0%) e no fluxo laminar desta sala limpa (2,0%). Em relação ao ano de 2015 demonstrou-se uma elevada percentagem de ocorrências com cerca de 14,9%. Na fase de preparação verificou-se uma percentagem de contaminações de cerca de 0,7%, na fase de filtração de 7,4% e no fluxo laminar da sala de filtração de 2,7%. A sala de filtração detém da maior percentagem de contaminações e por isso necessita de ser melhorada. A estrutura do fluxo laminar deverá ser reavaliada para não representar um risco de contaminação.



**Figura 4.1 - Comparação de valores entre 2014 e 2015 da amostragem do controlo microbiológico do ar.**

Na Figura 4.2 é possível verificar que no ano 2015 ocorreu um número de ocorrências superior em comparação com o ano anterior.



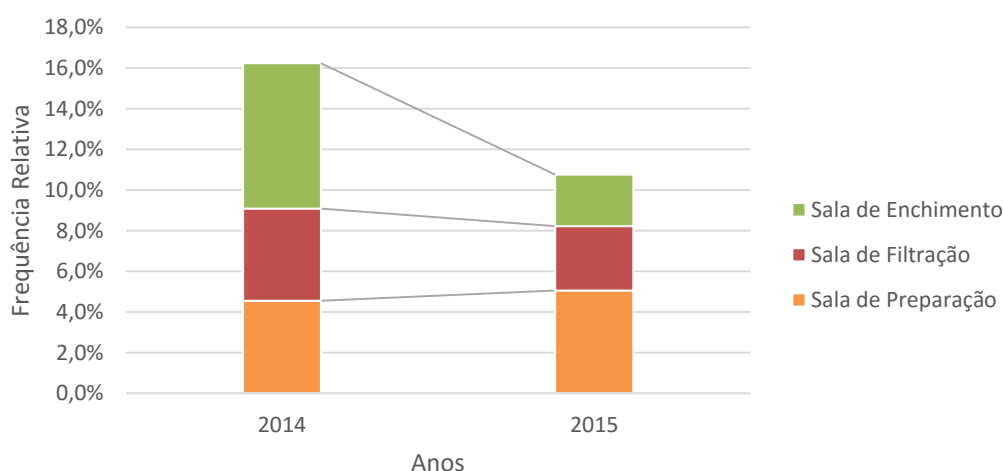
**Figura 4.2 - Comparação de valores entre 2014 e 2015 da amostragem do controlo microbiológico das superfícies.**

Com a Figura 4.2 é possível verificar que no ano 2014 apenas 2,3% das amostragens estavam com valores superiores aos estabelecidos (5 UFC/25 cm<sup>2</sup>) e apenas se direccionou à sala de enchimento. Por outro lado, em 2015, o número de ocorrências totais foi de 4,6%, nos quais 2,3% associados à sala de enchimento. Neste ano, também se verificou ocorrências de contaminações na sala de filtração (2,3%).

A frequência relativa da amostragem do controlo microbiológico das superfícies tem um valor relativamente baixo, no entanto no ano 2015 o valor aumentou em comparação com o ano 2014.

Para perceber o que levou a esse aumento é necessário proceder à identificação da origem dessas contaminações. Este aumento de contaminações pode estar associado a várias problemáticas que podem estar relacionadas com a necessidade de melhorar os procedimentos de limpeza e de esterilização e de reforçar a supervisão dos mesmos.

Na Figura 4.3 verifica-se uma diminuição do número de ocorrências em 2015. Inicialmente realizava-se uma recolha de amostras no fardamento e nas impressões de luvas, mas a partir de setembro de 2015 apenas se realiza amostragem às impressões de luvas uma vez que as BPF somente requerem este tipo de amostragem. Esta alteração pode ser utilizada para explicar a diminuição dos valores de contaminação. Realiza-se também a amostragem às impressões de luvas na fase de preparação, mas apenas a nível informativo para a empresa.



**Figura 4.3 - Comparação de valores entre 2014 e 2015 das amostragens do controlo microbiológico de impressões de luvas (vestiário).**

Em 2014, as amostragens revelaram que cerca de 16,1% das análises realizadas estavam fora dos limites estabelecidos (5 UFC/luva), nos quais 7,1% correspondem à fase de enchimento, 4,5% à fase de filtração e 4,5% à fase de preparação.

Em 2015, apenas se verifica 10,8% de ocorrências, com 5,1% direccionada para a fase de preparação, 3,2% para a fase de filtração e 2,5% para a fase de enchimento. Assim, é possível visualizar uma diminuição acentuada de ocorrências na fase de enchimento em 2015, o que pode revelar uma consciencialização e formação em BPF dos operadores da seção de injetáveis.

Com esta análise de contaminações nas fases do processo verifica-se um aumento de contaminações no ano 2015 tanto no controlo microbiológico do ar como no controlo microbiológico das superfícies. Assim, é necessário realizar uma análise através da identificação das espécies e origem de microrganismos de forma a tentar perceber a fonte destas contaminações (10%).

## 4.2.2 Análise de contaminações através da identificação de microrganismos

### Geral

Quando as amostras não cumprem os limites estabelecidos é necessário identificar as partículas viáveis que se desenvolvem nas placas de forma a tentar identificar o tipo ou a forma de contaminação.

Inicialmente procede-se à realização da cultura do microrganismo (riscado), em seguida realiza-se uma análise em microscópio (morfologia do microrganismos), e posteriormente introduz-se a amostra no equipamento VITEK de forma a identificar a espécie do microrganismo. O VITEK é um sistema integrado que combina as tarefas de inoculação, incubação e leitura das cartas permitindo a identificação rápida de contaminantes *in vitro*, num curto espaço de tempo e com menor interferência, por parte do operador, na preparação e manuseamento.

A identificação de microrganismos é referente às contaminações das amostras referidas no subcapítulo 4.2.1, ou seja no total das amostras efetuadas apenas 10% dessas amostras estavam contaminadas. Na Figura 4.4 verifica-se que cerca de 80% dos microrganismos identificados pertencem todos ao reino das bactérias, ou seja, os microrganismos *Micrococcus lylae*/*Micrococcus luteus* (15%), *Staphylococcus hominis* (10 %), *Sphingomonas paucimobilis* (9%), *Staphylococcus epidermidis* (9%), *Kokuria varians* (5 %), *Staphylococcus warneri* (4%), *Staphylococcus saprophyticus* (4%) entre outros.

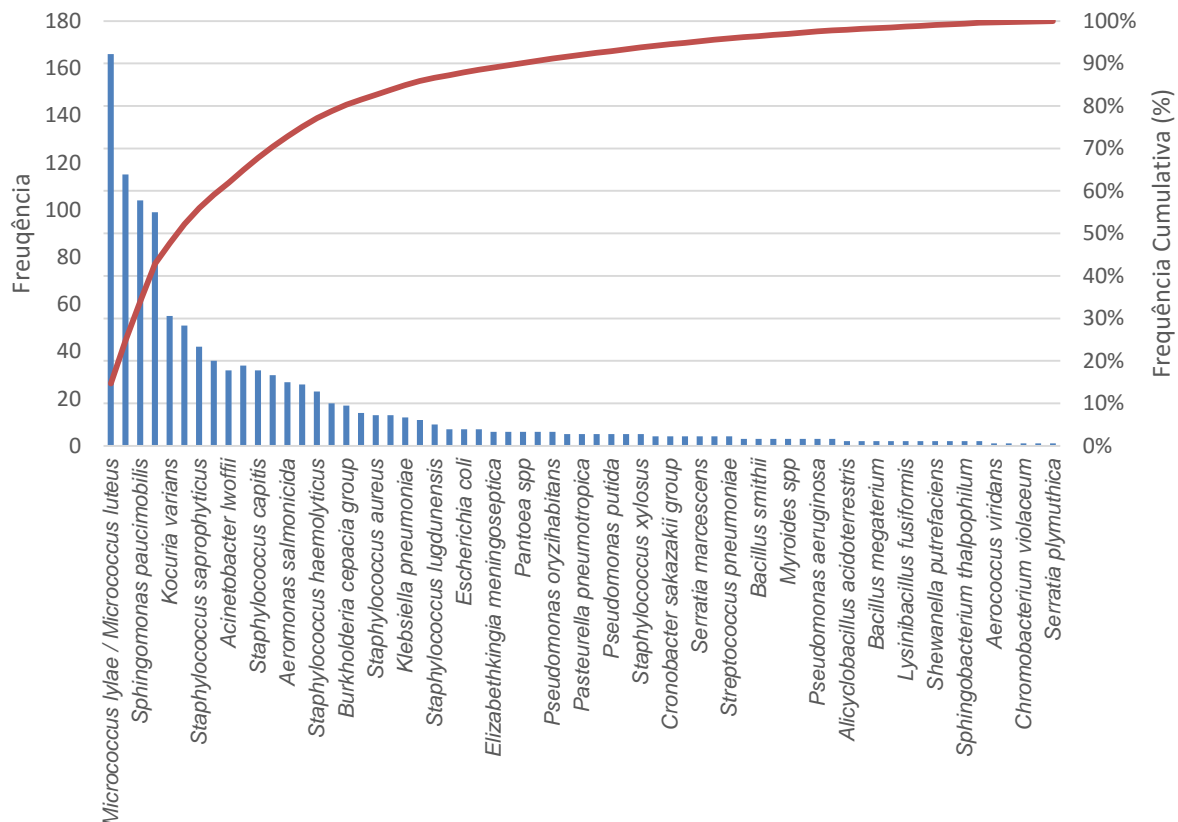
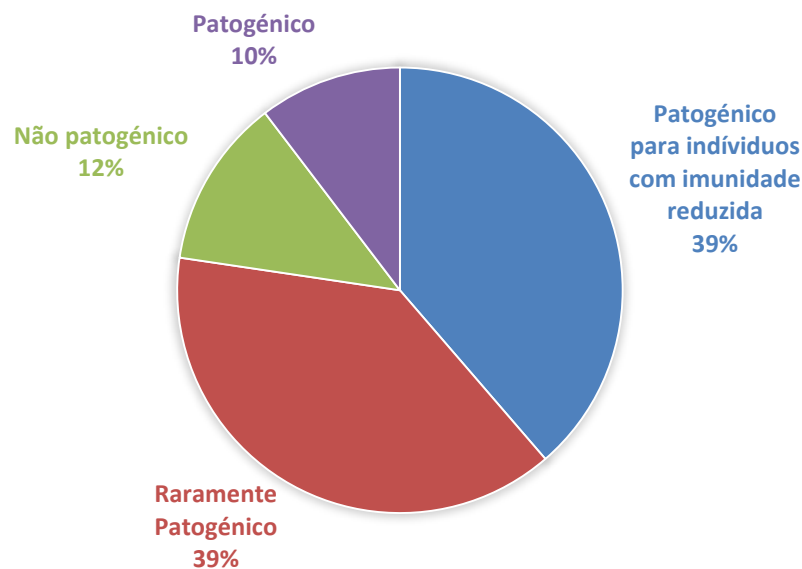


Figura 4.4 - Diagrama de Pareto dos microrganismos nas amostragens totais.

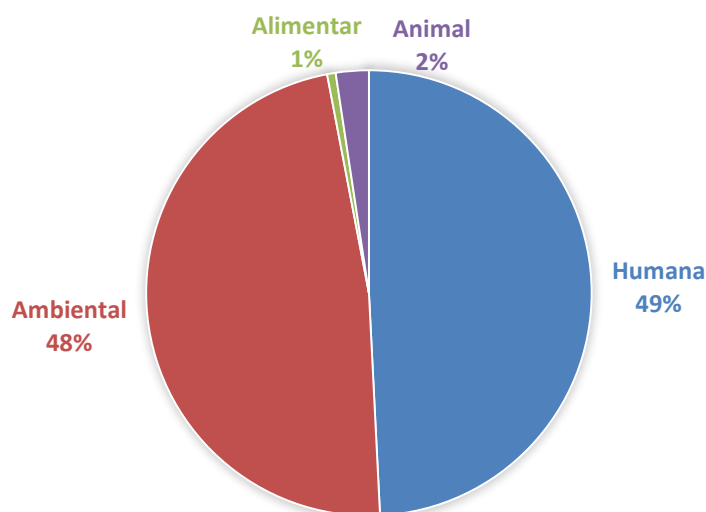
O microrganismo que mais aparece nas análises é o *Micrococcus lylae*/*Micrococcus luteus*, com uma frequência de 166. Estes são microrganismos de origem ambiental (solo, água e ar) e humana (pele) e são considerados patogênicos oportunistas - patogênicos para indivíduos com imunidade reduzida.

Na Figura 4.5 é possível identificar os microrganismos que aparecem com maior frequência nas amostras em geral. Cerca de 39% dos microrganismos são patogênicos para indivíduos com imunidade reduzida, 39% raramente patogênicos, 12% não patogênicos e 10% patogênicos.



**Figura 4.5 - Patogenicidade dos microrganismos nas amostragens totais.**

Em relação, à análise da origem dos microrganismos (Figura 4.6) temos que 49% dos microrganismos identificados são de origem humana, 48% de origem ambiental, 8% de origem animal e 1% de origem alimentar. Assim, o maior contributo às contaminações é referente a origens humanas e ambientais. Uma possível explicação pode estar associada a transferência de microrganismos através de operadores ou do ar existente nas instalações.



**Figura 4.6 - Origem dos microrganismos nas amostragens totais.**

Na Tabela 4.3 pode-se visualizar que os microrganismos de origem ambiental provêm de contaminações humanas (23%), da água (22%), do solo (11%) e dos animais (3%). A maior percentagem dos microrganismos de origem humana está associada à pele (98%), sendo esta o maior órgão do corpo humano, com grande superfície que promove as contaminações. Em microrganismos de origem animal cerca de 26% das contaminações está associada a excrementos dos animais.

**Tabela 4.3 - Origem dos microrganismos.**

Origem	Local	Percentagem
Humana	Pele	98%
	Trato Respiratório	1%
	Outros	1%
Ambiental	Humana	23%
	Água	22%
	Solo	11%
	Animais	3%
	Outros	41%
Animal	Fezes	26%
	Outros	74%

Depois de identificar a origem dos microrganismos nas amostragens em geral é necessário proceder à identificação de microrganismos em cada tipo de amostragem com o intuito de identificar com maior rigor as contaminações.

#### **Análise do controlo microbiológico do ar**

Em 2014, o controlo microbiológico do ar não identificou nenhuma contaminação em 97% do total das análises efetuadas, contudo nos 3% de contaminações detetadas cerca de 26% eram referentes aos microrganismos *Micrococcus lylae*/*Micrococcus luteus*. Em 2015, nos 15% de contaminações, os microrganismos mais detetados foram os *Staphylococcus hominis* com 26%.

**Tabela 4.4 - Comparação da frequência de microrganismos no controlo microbiológico do ar em 2014 e 2015.**

Microrganismos	Ar	
	2014	2015
<i>Micrococcus lylae</i> / <i>Micrococcus luteus</i>	26%	12%
<i>Staphylococcus hominis</i>	7%	15%
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	9%	10%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8%	8%
<i>Kocuria varians</i>	8%	6%
<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	5%	5%
<i>Brevundimonas diminuta</i> e <i>Brevundimonas vesicularis</i>	5%	4%
Outros	32%	40%

Na Tabela 4.5 verifica-se que destes microrganismos detetados a maior percentagem é referente à origem ambiental, seguida pela origem humana. Em relação à patogenicidade, em 2014, a maioria dos microrganismos eram patogénicos de imunidade reduzida (51%). Por outro lado, em 2015, a maioria são os microrganismos raramente patogénicos (47%).

**Tabela 4.5 - Identificação da origem e patogenicidade dos microrganismos das amostragens de controlo microbiológico do ar.**

		2014	2015
Origem dos microrganismos	Ambiental	75%	60%
	Humana	25%	40%
	Animal	-	-
Patogenicidade	Patogénico para indivíduos com imunidade reduzida	51%	37%
	Raramente patogénico	34%	47%
	Patogénico	-	-
	Não patogénico	15%	16%

A contaminação ambiental pode surgir de diversas formas, ou seja, através das partículas suspensas no ar que podem conter contaminações a partir da água, do solo, de animais ou de humanos. Esta fonte de contaminação é de difícil identificação, pelo que é necessário proceder a outros tipos de análises ao setor, nomeadamente a realização de uma auditoria interna ou de uma análise de risco ao processo de fabrico.

#### **Análise às amostras de superfícies**

Nestas amostras, verifica-se que existe uma grande percentagem de amostras sem contaminações, ou seja em 2014 cerca de 98% das amostras efetuadas não detetaram nenhuma contaminação e o mesmo se verifica em 2015 com cerca de 95% das amostras. Contudo nas contaminações detetadas em 2014 (2%), a maior percentagem é referente aos microrganismos *Brevundimonas diminuta* / *Brevundimonas vesicularis* com cerca de 19%. Estes microrganismos são de origem ambiental (água e solo) e não patogénicos. Em 2015, nos 5% de amostras contaminadas, o microrganismo mais encontrado é *Staphylococcus saprophyticus* (13%). Este microrganismo é de origem ambiental (pele e trato urinário) e patogénico.

**Tabela 4.6 - Comparação da frequência de microrganismos no controlo microbiológico das superfícies em 2014 e 2015.**

Microrganismos	Superfícies	
	2014	2015
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	14%	13%
<i>Brevundimonas diminuta</i> / <i>Brevundimonas vesicularis</i>	19%	1%
<i>Candida parapsilosis</i>	5%	6%
<i>Dermaococcus nishinomiyaensis</i>	5%	6%
<i>Micrococcus lylae</i> e <i>luteus</i>	5%	6%
<i>Staphylococcus hominis</i>	0%	10%
<i>Staphylococcus capitis</i>	0%	10%
Outros	52%	48%

Na Tabela 4.7 verifica-se que em 2014, a grande incidência de microrganismos estava direcionado para a origem ambiental (60%), por outro lado, em 2015 a incidência é associada a microrganismos de origem humana (63%). Em análise à patogenicidade, em 2014, a maioria dos microrganismos eram não patogénicos (50%). Contudo em 2015, a grande maioria eram microrganismos raramente patogénicos (38%).

**Tabela 4.7 - Identificação da origem e patogenicidade dos microrganismos das amostragens de controlo microbiológico de superfícies.**

		2014	2015
Origem dos microrganismos	Ambiental	60%	25%
	Humana	30%	63%
	Animal	10%	13%
Patogenicidade	Patogénico para indivíduos com imunidade reduzida	20%	25%
	Raramente Patogénico	-	38%
	Patogénico	30%	25%
	Não patogénico	50%	12%

Como forma de identificar o aumento da contaminação por origem humana é necessário verificar se os operadores estão a cumprir os procedimentos necessários relativamente ao vestuário e ao seu comportamento dentro do setor de fabrico de soluções estéreis. Assim propôs-se a realização de uma auditoria interna dentro desse setor.

#### **Análise às amostras das impressões de luvas (vestuário)**

A maioria das análises às amostras das impressões de luvas não revelam nenhum tipo contaminação de partículas viáveis, ou seja em 2014 cerca de 84% das amostras efetuadas não detetaram nenhuma contaminação e o mesmo se verificou no ano de 2015 com 95% das amostras.

Em 2014, nos 16% das amostras contaminadas, os microrganismos *Micrococcus lylae*/*Micrococcus luteus* detiveram cerca de 16%, seguidos por *Sphingomonas paucimobilis* com 11% e *Staphylococcus epidermidis* com 10%. Em 2015, nos 5% das amostras contaminadas, verificou-se que os microrganismos com maior percentagem foram *Staphylococcus hominis* (15%) e *Micrococcus lylae* / *Micrococcus luteus* (14%).

**Tabela 4.8 - Comparação da frequência de microrganismos no controlo microbiológico da impressão de luvas (vestiário) em 2014 e 2015.**

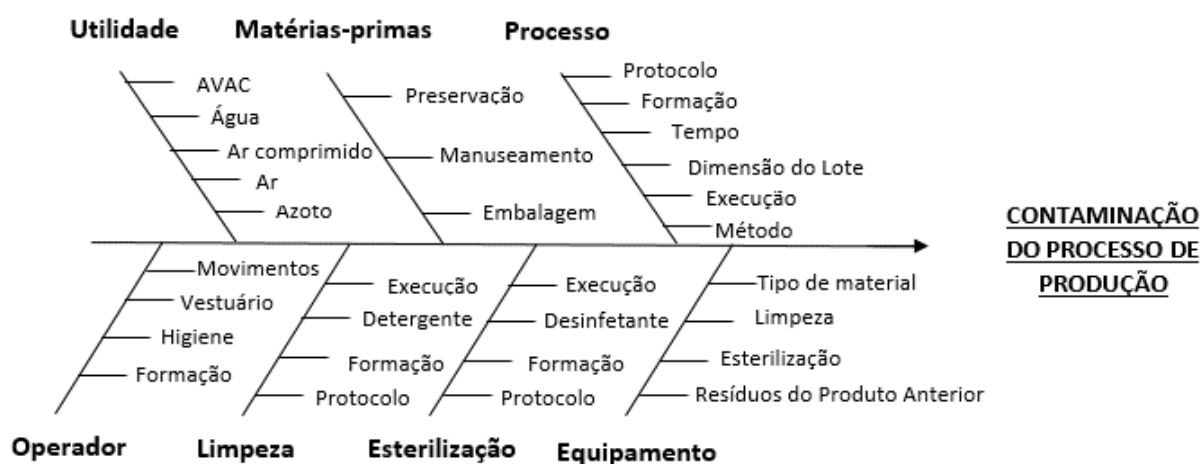
Microrganismos	Impressão de luvas	
	2014	2015
<i>Micrococcus lylae</i> / <i>Micrococcus luteus</i>	16%	14%
<i>Staphylococcus hominis</i>	7%	15%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10%	10%
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	11%	7%
<i>Staphylococcus warneri</i>	5%	7%
<i>Kocuria varians</i>	5%	4%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4%	4%
Outros	42%	39%

Na Tabela 4.9 é possível verificar que a grande maioria da origem dos microrganismos é a humana, com 53% em 2014 e 66% em 2015. Os microrganismos patogênicos para indivíduos de imunidade reduzida detêm 47% em 2014 e 34% em 2015 e os microrganismos raramente patogênicos detêm 47% em 2014 e 60% em 2015.

**Tabela 4.9 - Identificação da origem e patogenicidade dos microrganismos das amostragens de controlo microbiológico das impressões de luvas (vestuário).**

		2014	2015
<b>Origem dos microrganismos</b>	Ambiental	47%	34%
	Humana	53%	66%
	Animal	-	-
<b>Patogenicidade</b>	Patogénico para indivíduos com imunidade reduzida	47%	34%
	Raramente patogénico	47%	60%
	Patogénico	6%	6%
	Não patogénico	-	-

Na tentativa de justificar o aumento da origem humana em 2015, além de se proceder à auditoria e análises de risco do processo realizou-se um diagrama de causa e efeito de modo a perceber as diversas formas de contaminação do processo de produção (Figura 4.7).



**Figura 4.7 - Diagrama de causa e efeito para a contaminação do processo de produção.**

Este diagrama mostra que a possível contaminação ambiental pode ter origem no sistema de aquecimento, ventilação e ar condicionado, na água, no azoto e no ar comprimido. Assim é necessário realizar um controlo estatístico aos parâmetros ambientais existentes nas salas críticas ao processo (cartas de controlo) de modo a perceber se estes estão dentro dos limites de especificação.

Em relação à contaminação de origem humana, existe uma grande incidência nos operadores nomeadamente pelo número excessivo de movimentações e pelo aumento de transpiração (influenciado pelo aumento da temperatura no setor). Os operadores têm a formação necessária para cumprir as regras de higiene e fardamento. O fardamento é adequado e obedece às regras de substituição, lavagem e esterilização.

No entanto também podem ocorrer contaminações relativamente às matérias-primas (pela preservação, manuseamento e embalagem inadequados), à limpeza e esterilização (pela execução,



detergente, desinfetante, formação e protocolo inadequados), ao processo (através do protocolo, formação, método, execução, dimensão do lote e tempo de fabrico inadequados) e ao equipamento (material, limpeza e esterilização inadequados).

### 4.3 Auditoria Interna ao Setor de Injetáveis

Esta auditoria interna teve em conta três normas ISO contendo diversas partes que podem ser consultadas no anexo A.4. Na Tabela 4.10 verifica-se que em 194 parâmetros analisados, cerca de 17 destes parâmetros (cerca de 8.6%) estão sujeitos a implementar algumas melhorias no setor de forma a cumprir as especificações.

Na ISO 14644, verifica-se uma necessidade de melhoria em métodos de teste e *layout* da instalação. Na ISO 14698 apenas se identifica um parâmetro sujeito a melhoria (dispositivo de amostragem), assim o setor está operacional de acordo com esta norma. Segundo a ISO 13408 a maior problemática é em relação ao fabrico de produtos.

**Tabela 4.10 - Identificação dos tópicos com problemáticas sujeitas a melhorias.**

Regulamentação ISO	Ação a melhorar	Total	Percentagem	Percentagem do Total
<b>ISO 14644</b>				
Classificação da limpeza do ar por concentração de partículas	1	8	12,5%	0,5%
Especificações para monitorização e testes periódicos para provar a conformidade contínua	1	6	16,7%	0,5%
Métodos de teste	3	9	33,3%	1,5%
Projeto, construção e iniciação	1	8	12,5%	0,5%
<i>Layout</i> da instalação	6	21	28,6%	3,1%
<b>ISO 14698</b>				
Dispositivos de amostragem	1	2	50,0%	0,5%
<b>ISO 13408</b>				
Introdução de materiais e componentes à área de processamento asséptico	1	5	20,0%	0,5%
Manutenção de equipamento	1	2	50,0%	0,5%
Fabrico do produto	2	3	66,7%	1,0%
Total	17	194	-	8,6%

Na Tabela 4.11 verifica-se as potenciais não conformidade existentes no setor de injetáveis tendo uma justificação associada a cada parâmetro.

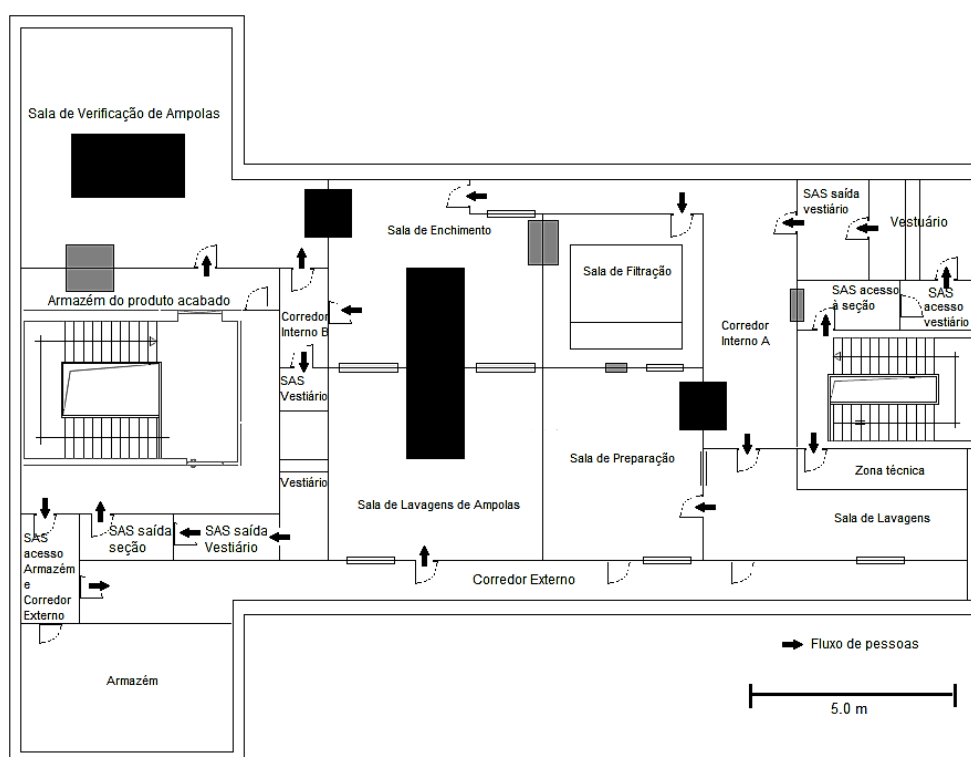
**Tabela 4.11 - Potenciais não conformidades do setor de injetável (ações de melhoria)**

Requisitos	Conformidade	Justificação
Realização de ações corretivas a processos	Ação a melhorar	Para implementar
Realização de teste de vazamento de contenção	Ação a melhorar	Para implementar
Verificação do diferencial de pressão entre 5 e 20 Pa	Ação a melhorar	Verificar nas cartas de controlo
Realização de teste de uniformidade de humidade e temperatura	Ação a melhorar	Verificar nas cartas de controlo
Realização de teste de gerador de iões electrostáticos	Ação a melhorar	Para implementar
Realização de limpeza a vácuo de equipamentos	Ação a melhorar	Só em autoclave e a vapor
O sistema de fumigação tem em atenção aos equipamentos e operadores localizados na sala	Ação a melhorar	Químico (peróxido) está a corroer o material/equipamento
Existência de sistemas de comunicação para minimizar a fala e movimentos das pessoas para dentro e fora da sala limpa.	Ação a melhorar	Não existe intercomunicador
Os sistemas de comunicação foram concebidos para facilitar a limpeza	Ação a melhorar	Para implementar
As zonas de entrada e saída de pessoas no vestiário são separadas por tempo ou por zonas diferentes de entrada e saída	Ação a melhorar	<i>Layout</i>
Existem disposições no vestuário que permitem o armazenamento e eliminação de vestuário e acessórios, armazenamento de itens pessoais, lavatório e secador, exibição da sequência de vestuário e espelhos de corpo inteiro	Ação a melhorar	Não existe secador
O controlo da temperatura tem em atenção os processos, equipamentos, materiais e condições estáveis do processo	Ação a melhorar	A temperatura na sala de lavagens de ampolas aumenta ao longo do processo
O controlo de humidade relativa tem em atenção o processo, equipamento, materiais, a redução de cargas eletrostáticas e conforto do pessoal	Ação a melhorar	A humidade relativa na sala de lavagens de ampolas aumenta ao longo do processo
Os processos que envolvem evaporação ocorrem no interior de caixas ventiladas	Ação a melhorar	Para implementar
A iluminação deve ter cores com efeitos no conforto do pessoal e deve ter em atenção os níveis de iluminação nos processos fotossensíveis.	Ação a melhorar	Não existem vários níveis de iluminação
Utilização da eficiência física ou eficiência biológica	Ação a melhorar	O equipamento de recolha de partículas não viáveis não está em funcionamento na sala de preparação
O acesso e transferência de materiais, componentes e equipamentos dentro ou fora das câmaras intermédias são controlados	Ação a melhorar	A <i>pass box</i> tem um puxador avariado que não permite que se ligue a luz UV
Existe um programa de manutenção preventiva, tais como utilidades, serviços e equipamentos e inclui a calibração de instrumentos.	Ação a melhorar	Devia haver mais peças em armazém e um programa preventivo
Os materiais usados na produção parenteral são livres de endotoxinas e obedecem ao teste de limites de endotoxinas definidos e justificados pelo produtor.	Ação a melhorar	Requalificação do túnel de despirogenização
Efetua-se a avaliação dos dados para demonstrar o conhecimento das quantidades de endotoxinas antes do tratamento no processo de despirogenização.	Ação a melhorar	Requalificação do túnel de despirogenização

De forma a melhorar o *layout* da instalação e o fabrico de produtos realizou-se uma proposta de um novo *layout* para o setor de soluções injetáveis e a análise de risco em processo de simulação (*Media Fill*).

#### 4.4 Proposta de um *Layout* no Setor de Injetáveis

Com o intuito de minimizar as prováveis contaminações foi proposto a alteração do *layout* do setor de injetáveis de modo a segurar as recomendações de melhoria. Nas áreas limpas, deve estar presente apenas pessoas aptas e qualificadas. Na Figura 4.8, o preto representa o equipamento, a cinzento-claro as janelas que não podem ser abertas e a cinzento-escuro as caixas de passagem de material/produto com possibilidade de utilizar luz ultravioleta. As caixas de passagem de material tem duas portas, uma em cada sala, mas essas portas não podem ser abertas em simultâneo, o que não acontece no *layout* atual do setor da empresa.



**Figura 4.8 - Possibilidade de *layout* do setor com implementações de melhoria.**

Segundo o *layout* proposto as portas abrem sempre para as zonas de maior pressão, para que, quando fechadas, a pressão as auxilie a permanecerem fechadas. As portas têm um mecanismo para se fecharem sozinhas, assim diminui o risco de ficarem abertas por muito tempo. No *layout* atual, apenas existe esse mecanismo para a sala de filtração.

Na sala de preparação, filtração e enchimento existem passagens diretas do produto de forma a evitar contaminações. Esta planta tem uma zona de entrada diferente da zona de saída, para que não ocorra contaminações cruzadas, existe um intercomunicador de parede em cada sala limpa, de forma a não ocorrer contaminações. Atualmente utiliza-se um telefone que circula por todo o setor de injetáveis e por isso é propício a contaminações. O diferencial de pressão de salas adjacentes de diferentes classes tem valores entre 10 a 15 Pa, ou seja, aplica-se à sala SAS saída vestiário e o corredor interno A e à sala de enchimento e o corredor interno B.

O *layout* proposto permite reduzir o número de contaminações ao processo de produção, mas tem um custo de construção muito elevado. Contudo, também foram estudadas outras oportunidades de melhoria para o fabrico de soluções injetáveis através da realização da análise de risco da simulação de processo “*worst case*” e da análise de risco dos pontos de amostragem de monitorização ambiental em cada sala limpa.

## 4.5 Análise de Risco do *Media Fill*

Na Tabela 4.12 verifica-se que o maior número de prioridade de risco (NPR) é referente ao parâmetro do volume final incorreto, seguido pela limpeza deficiente da cuba de preparação, pela contaminação da linha de água para preparações de injetáveis e pela contaminação cruzada e ambiental.

**Tabela 4.12 - Análise de risco do *Media Fill* na fase de preparação.**

Fase do Processo	Modo potencial do erro	Efeito potencial do erro	Severidade	Causa potencial do erro	Ocorrência	Medidas de Controlo	Deteção	NPR	Medidas de Ação
Preparação	Volume final incorreto	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Quantidade adicionada de água purificada	7	Verificação da calibração da escala	10	<b>700</b>	Verificação do método de medição
	Limpeza deficiente da cuba de preparação	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Limpeza Insuficiente	4	Águas de limpeza	7	<b>196</b>	Validação de limpeza
	Contaminação da linha de água PPI	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Falha no sistema de água ou amostragem incorreta	4	Controlo microbiológico e FQ da linha de água nos pontos de uso.	7	<b>196</b>	Qualificação da linha de água PPI e controlo da água purificada nos pontos de uso
	Contaminação cruzada / ambiental	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Falha no sistema de ar e pressão das salas	4	Controlo microbiológico do ar e controlo de partículas	7	<b>196</b>	Verificação da classificação ISO 14644
	Contaminação cruzada do operador	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Processo de Fardamento incorreto	4	Controlo microbiológico do fardamento	7	<b>196</b>	Controlo microbiológico fardamento
	Contaminação gás inerte	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Crescimento microbiano	4	Teste de integridade do filtro e controlo microbiológico	7	<b>196</b>	Qualificação da linha de azoto
	Dissolução incompleta dos componentes	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Tempo de agitação	1	Tempo de agitação e temperatura de preparação	10	<b>70</b>	Medidas de ação não requeridas
	pH final fora de limites	Investigação não limitativa de utilização de lote	4	Tempo de agitação do meio ou ajuste incorreto de pH	7	Calibração e verificação do equipamento medidor de pH.	1	<b>28</b>	Medidas de ação não requeridas
	Pesagem incorreta das Matérias-primas	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Erro de pesagem	1	Qualificação e calibração das balanças utilizadas;	1	<b>10</b>	Medidas de ação não requeridas

Na Tabela 4.13 verifica-se que os parâmetros mais problemáticos na fase de filtração são a contaminação cruzada (ambiental e operador), a falha do filtro, a turvação do meio, a colmatação do filtro.

**Tabela 4.13 - Análise de risco do *Media Fill* na fase de filtração.**

Fase do Processo	Modo potencial do erro	Efeito potencial do erro	Severidade	Causa potencial do erro	Ocorrência	Medidas de Controlo	Deteção	NPR	Medidas de ação
Filtração	Contaminação cruzada ambiental	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Falha no sistema de ar e limpeza da sala	4	Monitorização microbiológica do ar	7	<b>196</b>	Controlo microbiológico ambiental e de superfícies
	Contaminação cruzada do operador	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Processo de vestuário incorreto	4	Controlo microbiológico do vestuário	7	<b>196</b>	Controlo microbiológico do vestuário
	Falha do filtro	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Falha no teste de integridade	4	Integridade do filtro antes e após filtração da solução	4	<b>160</b>	Substituição do filtro
	Turvação / alteração da cor do meio	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Crescimento microbiano	4	Ensaio de Bioburden antes e após a filtração e teste de promoção de crescimento	4	<b>160</b>	Incubação do lote a 20-25°C durante 7 dias e a 30-35°C nos 7 dias seguintes e dupla filtração durante a fase de enchimento
	Colmatação do filtro	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Bioburden com número de partículas elevado	1	Ensaio de Bioburden antes e após a filtração	10	<b>100</b>	Investigação exaustiva da fonte de contaminação
	Falta de integridade do filtro	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Falha no teste de integridade	4	Integridade do filtro antes e após filtração da solução	1	<b>28</b>	Medidas de ação não requeridas
	Filtro inadequado	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Porosidade do filtro incorreta ou área de filtração insuficiente	1	Filtração esterilizante com filtros de 0,2 µm	1	<b>7</b>	Medidas de ação não requeridas
	Pressão de azoto elevada	Investigação não limitativa de utilização de lote	4	Pressão de azoto muito elevada	1	Controlo da pressão de azoto	1	<b>4</b>	Medidas de ação não requeridas

Na Tabela 4.14 pode-se verificar que para a fase de enchimento os tópicos com maior número de prioridade de risco são alusivos à falha no fluxo de ar laminar, à contaminação cruzada pelo operador, a partículas visíveis no produto, ao fecho incorreto das ampolas de vidro, à contaminação cruzada e ambiental, à falha no sistema de azoto, entre outros.

A Tabela 4.14 também descremina as medidas de ação que devem ser efetuadas caso se verifique o modo potencial de erro a que estas estão associadas, com o intuito de promover um processo de fabrico de soluções parenterais adequado.

**Tabela 4.14 - Análise de risco do *Media Fill* na fase de enchimento.**

Fase do Processo	Modo potencial do erro	Efeito potencial do erro	Severidade	Causa potencial do erro	Ocorrência	Medidas de Controlo	Deteção	NPR	Medidas de ação
Enchimento	Falha no fluxo de ar laminar	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Contaminação microbiana	4	Controlo velocidade, temperatura e qualidade do ar	7	<b>196</b>	Cumprimento dos requestos teóricos de velocidade
	Contaminação cruzada do operador	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Processo de vestuário incorreto	4	Controlo microbiológico do vestuário	7	<b>196</b>	Validação semestral do enchimento asséptico e qualificação operador
	Partículas visíveis	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Partículas aderentes às ampolas provenientes do túnel de despirogenização	4	Controlo de qualidade partículas visíveis e não visíveis	4	<b>112</b>	Qualificação da limpeza das ampolas e do túnel de despirogenização
	Fecho incorreto das ampolas	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Desajuste de chama	4	Estanquicidade e controlo de qualidade de partículas não visíveis	4	<b>112</b>	Qualificação da máquina de verificação de ampolas
	Contaminação cruzada ambiental	Investigação não limitativa de utilização de lote	4	Falha no sistema de ar e pressão	4	Monitorização de contagem de partículas, pressão humidade e temperatura	7	<b>112</b>	Controlo microbiológico ambiental e de superfícies
	Falha no sistema de azoto	Investigação não limitativa de utilização de lote	4	Contaminação microbiana	4	Filtração do azoto e controlo de qualidade do azoto	4	<b>64</b>	Investigação exaustiva da fonte de contaminação
	Ajustes / paragens de máquina	Investigação não limitativa de utilização de lote	4	Ajuste incorreto de dosificador	4	Verificação do volume de enchimento	4	<b>64</b>	Qualificação da máquina de enchimento e da máquina de verificação de volume
	Duração de enchimento	Investigação não limitativa de utilização de lote	4	Mudança de turno	4	Simulação de mudança de turno	4	<b>64</b>	Validação semestral do enchimento asséptico
	Paragens da linha de enchimento	Investigação não limitativa de utilização de lote	4	Presença de pessoal adicional	4	Monitorização de ar, superfícies e vestuário	4	<b>64</b>	Validação semestral do enchimento asséptico
	Problemas na agulha doseadora	Investigação não limitativa de utilização de lote	4	Interrupção operacional	4	Monitorização de ar por sedimentação dentro do fluxo laminar durante o tempo de paragem	4	<b>64</b>	Substituição de agulhas de enchimento
	Falha no sistema de ar laminar	Limitação da utilização do lote - investigação rigorosa	7	Falha no sistema de ar laminar	1	Monitorização microbiológica por sedimentação e controlo de temperatura e velocidade	7	<b>49</b>	Controlo microbiológico por sedimentação

Em relação à análise de risco na lavagem e despirogenização a maior problemática é referente à contaminação da água de lavagem de ampolas que vai fazer com que o lote seja rejeitado, como se pode verificar através da Tabela 4.15.

**Tabela 4.15 - Análise de risco do *Media Fill* na lavagem e despirogenização de ampolas.**

Fase do Processo	Modo potencial do erro	Efeito potencial do erro	Severidade	Causa potencial do erro	Ocorrência	Medidas de Controlo	Deteção	NPR	Medidas de ação
Lavagem e despirogenização ampolas	Contaminação da água de lavagem das ampolas	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Contaminação da linha de água PUR	4	Controlo da água PPI utilizada na lavagem das ampolas.	10	<b>400</b>	Investigação exaustiva da fonte de contaminação e qualificação da unidade de lavagem de ampolas
	Contaminação por endotoxinas devido a despirogenização incompleta.	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Despirogenização incompleta	1	Parâmetros de velocidade e temperatura e controlo de endotoxinas microbianas	10	<b>100</b>	Qualificação do túnel de despirogenização

Na Tabela 4.16 pode-se visualizar que o parâmetro mais problemático referente à fase de verificação de ampolas é as partículas visíveis não detetadas, seguida pela aprovação de ampolas com volume incorreto e de ampolas sem estanquicidade.

Se algum destes parâmetros se verificar, a máquina de verificação de ampolas não está a funcionar corretamente e necessita de ser qualificada.

**Tabela 4.16 - Análise de risco do *Media Fill* na fase de verificação de ampolas.**

Fase do Processo	Modo potencial do erro	Efeito potencial do erro	Severidade	Causa potencial do erro	Ocorrência	Medidas de Controlo	Deteção	NPR	Medidas de ação
Verificação das Ampolas	Partículas visíveis não detetadas	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Desajuste de máquina e falha de especificação funcional do material	4	Controlo de partículas visíveis e não visíveis	4	<b>160</b>	Qualificação da máquina de verificação de ampolas
	Aprovação de ampolas com volume incorreto	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Erro do operador	1	Controlo de volume	4	<b>40</b>	Qualificação da máquina de verificação de ampolas
	Aprovação de ampolas sem estanquicidade	Rejeitar lote / Reprocessamento	10	Defeito no material ou limpeza deficiente da máquina	1	Qualificação de Fornecedores	4	<b>40</b>	Qualificação da máquina de verificação de ampolas

## 4.6 Análise de Risco de Pontos de Amostragem

Com o intuito de perceber se o número de amostragens realizadas era suficiente em cada sala limpa do setor de injetáveis realizou-se uma análise de risco dos pontos de amostragem com a utilização de quatro fatores de risco referentes à classificação das salas limpas (Ver anexo A.5).

Na Tabela 4.17 pode-se verificar o número de pontos de amostragem que deveria ocorrer em cada sala limpa e o número de amostras recolhidas na empresa. Para esta análise foi necessário conhecer a área e o volume de cada sala limpa do setor de soluções injetáveis.

**Tabela 4.17 - Comparação dos pontos de amostragem existentes na empresa com a análise de risco realizada.**

Equipamento / Área	Amostras para controle das superfícies (N)	Superfícies - Empresa	Amostras para controle do ar (P)	Centrifugação (P/2)	Ar – centrifugação - Empresa	Sedimentação (P/2)	Ar – sedimentação - Empresa
Fluxo laminar da sala de filtração	-	1	4	2	1	2	5 4horas
Fluxo laminar da Máquina de enchimento	-	1	3	1	1	1	5 4horas
SAS de saída do vestiário	3	2	3	2	1	2	-
Corredor interno da secção de Injetáveis (Antecâmara)	6	2	5	3	1	3	-
Sala de preparação	6	3	5	2	2	2	-
Sala de lavagem	5	2	5	2	1	2	-
Sala de filtração	5	3	4	2	2	2	-
Sala de enchimento	6	2	5	2	3	2	-
SAS de acesso ao vestiário	2	2	3	1	1	1	-
Vestiário	4	2	4	2	1	2	-
Sala de transferência de ampolas	10	2	7	4	1	4	-
Sala de verificação de ampolas	9	2	7	3	1	3	-
SAS de acesso à secção de injetáveis	3	-	3	1	-	1	-
Sala de lavagem de ampolas	8	2	6	3	1	3	-
SAS armazém de ampolas / sala de lavagem de ampolas	2	-	3	1	1	1	-
Receção / Armazém de ampolas	4	2	4	2	1	2	-
SAS Receção / Armazém de ampolas	4	-	4	2	-	2	-



Em relação às amostragens de controlo microbiológico de superfícies verifica-se que deveria haver mais pontos de amostragem do que realmente se efetua. Assim deveria se implementar novas localizações de amostragens nas salas críticas (sala de filtração e sala de enchimento) do processo de fabrico.

Nas amostras de controlo microbiológico do ar por centrifugação também se deveriam aumentar o número de pontos de amostragem. Contudo verifica-se que as amostragens nas salas críticas estão de acordo com o esperado. Na sala de enchimento verifica-se que o número de amostragens é superior ao esperado, revelando que existem amostragens suficientes para controlo de contaminações microbiológicas.

As amostragens de ar por sedimentação apenas se efetuam dentro dos fluxo de ar laminar. E como se pode verificar na Tabela 4.17 efetua-se amostragens suficientes em relação ao número de pontos esperado. Segundo as entidades reguladoras não é necessário realizar este tipo de amostragem para as salas limpas, assim pode-se concluir que os pontos de amostragem são suficientes para realizar o controlo microbiológico do setor de injetáveis.

## **4.7 Produto *Worst Case***

A identificação do produto *worst case* em cada processo de fabrico permite visualizar como se propaga e o que leva à ocorrência de contaminações.

Nesta análise tem como objetivo identificar as diferenças de fabrico de cada produto dentro do mesmo processo (esterilização final e processo assético).

Na fase de preparação tem-se que quanto maior a dimensão do lote do produto, mais suscetível é a contaminações. Com a utilização de cubas de volume maior, vai aumentar a área de contacto entre o equipamento e produto. Outro fator é que as cubas de 100L ou de volume superior apenas são sanitizadas (e não esterilizadas em autoclave). Em relação ao número de componentes (matérias-primas), quanto maior for este número, mais o produto estará sujeito a contaminações (maior manuseamento). A água PPI não é estéril, por isso quanto menor for a percentagem de componentes em água, maior é a necessidade de adição de água e aumenta a probabilidade de ocorrência de contaminações. Nos produtos onde é necessário realizar o acerto do pH (adicionar ácido ou base), vai aumentar a exposição do produto à contaminação.

Na fase de filtração, quanto maior o número de cubas de *stockagem* utilizadas, maior será a probabilidade de contaminação do produto. Em relação aos filtros usados, quanto maior o número de filtros adequados ao produto e menor o tamanho do poro do filtro (com a realização de teste de integridade adequado), menor a probabilidade de contaminação do produto.

Na fase de enchimento, quanto maior o volume da ampola, menor velocidade de enchimento e por isso maior exposição à contaminação (ampola aberta mais tempo), a ampola de cor âmbar não permite uma visualização perfeita do produto e o tempo de enchimento maior também é propício a maiores contaminações.

Em relação ao número de etapas do processo de fabrico, quanto maior este número maior será a exposição à contaminação. O modo de administração do produto também influencia o risco do produto, quando é administrado por via intravenosa é mais crítico do que quando é administrado por via intramuscular.

### 4.7.1 Esterilização Final

Na Tabela 4.18, Tabela 4.19 e Tabela 4.20 é possível verificar os parâmetros que diferenciam os produtos de esterilização final.

**Tabela 4.18 - Comparação de produtos de esterilização final.**

Fase do processo	Produtos	Esterilização Final				
		Produto A	Produto B	Produto C	Produto D	Produto E
Preparação	Dimensão do lote (L)	150	100	100	150	100
	Dimensão do lote (ampolas)	14 285	45 454	9 523	68 181	18 867
	Volume da cuba de preparação (L)	200	200	200	200	200
	Número de componentes	3	6	5	4	7
	Percentagem dos componentes em água	30,3%	0,3%	2,0%	1,9%	2,0%
	Controlo de alteração do pH (baixar e aumentar o pH)	Não	Não	Sim	Não	Não
Filtração	Volume da cuba de <i>stockagem</i> (L)	100 e 50	100	50	100 e 50	100
	Número de cubas de <i>stockagem</i>	2	1	1	2	1
	Número de filtros utilizados	2	1	2	2	1
	Teste de integridade dos filtros (mbar)	>3400	>3400	>3450	>3400	>3400
	Tamanho de poro do filtro (µm)	1,0 e 0,2	0,2	0,45 e 0,22	1,0 e 0,2	0,2
Enchimento	Temperatura de lavagem e despirogenização (°C)	300	300	300	300	300
	Volume nominal (mL)	10	2	10	2	5
	Cor da ampola	Âmbar	Incolor	Incolor	Âmbar	Incolor
	Velocidade de enchimento (ampola/min)	100	175	100	200	160
	Tempo médio de enchimento (h)	2,4	4,3	1,6	5,7	2,0
Número de etapas		10	10	10	10	12
Vias de administração		Perfusão - intravenosa	Intramuscular	Intravenosa ou intramuscular	Intramuscular ou intravenosa	Intramuscular
Análise de risco		6	4	5	7	3

Tabela 4.19 - Continuação da comparação de produto de esterilização final.

Fase do processo	Produtos	Esterilização Final					
		Produto F	Produto G	Produto H	Produto I	Produto J	Produto K
Preparação	Dimensão do lote (L)	100	100	100	50	50	40
	Dimensão do lote (ampolas)	46 511	18 867	45 454	15 625	43 478	3 809
	Volume da cuba de preparação (L)	200	200	200	50	50	50
	Número de componentes	6	3	3	6	3	3
	Percentagem dos componentes em água	2,1%	0,1%	1,6%	3,3%	1,6%	1,3%
	Controlo de alteração do pH (baixar e aumentar o pH)	Não	Não	Não	Sim	Não	Não
Filtração	Volume da cuba de <i>stockagem</i> (L)	100	100	100	50	50	50
	Número de cubas de <i>stockagem</i>	1	1	1	1	1	1
	Número de filtros utilizados	1	1	1	2	2	2
	Teste de integridade dos filtros (mbar)	>3400	>3400	>3400	>3180 e >3750	>3450	>3450
	Tamanho de poro do filtro (µm)	0,2	0,2	0,2	0,2 e 0,1	0,45 e 0,22	0,45 e 0,22
Enchimento	Temperatura de lavagem e despirogenização (°C)	300	300	300	300	300	300
	Volume nominal (mL)	2	5	2	3	1	10
	Cor da ampola	Incolor	Incolor	Incolor	Incolor	Incolor	Incolor
	Velocidade de enchimento (ampola/min)	200	160	200	200	200	100
	Tempo médio de enchimento (h)	3,9	2,0	3,8	1,3	3,6	0,6
Número de etapas		12	11	11	14	10	10
Vias de administração		Intravenosa	Intravenosa	Intravenosa ou intramuscular	Intravenosa ou intramuscular	Subcutânea, epidural, intravenosa	Subcutânea, epidural, intravenosa
Análise de risco		3	3	3	2	2	3

Tabela 4.20 - Continuação da comparação de produto de esterilização final.

Fase do processo	Produtos	Esterilização Final					
		Produto L	Produto M	Produto N	Produto O	Produto P	Produto Q
Preparação	Dimensão do lote (L)	50	50	100	150	50	150
	Dimensão do lote (ampolas)	4 761	45 454	23 255	68 181	43 478	68 181
	Volume da cuba de preparação (L)	50	50	150	200	100	200
	Número de componentes	3	5	6	5	2	3
	Percentagem dos componentes em água	1,6%	1,7%	2,0%	5,4%	0,1%	0,6%
	Controlo de alteração do pH (baixar e aumentar o pH)	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Filtração	Volume da cuba de <i>stockagem</i> (L)	50	50	100	100 e 50	50	100 e 50
	Número de cubas de <i>stockagem</i>	1	1	1	2	1	2
	Número de filtros utilizados	2	1	1	1	2	1
	Teste de integridade dos filtros (mbar)	>3450	>3400	>3400	>3400	>3450	>3180
	Tamanho de poro do filtro (µm)	0,45 e 0,22	0,2	0,2	0,2	0,45 e 0,22	0,2
Enchimento	Temperatura de lavagem e despirogenização (°C)	300	300	300	300	300	300
	Volume nominal (mL)	10	1	4	2	1	2
	Cor da ampola	Incolor	Incolor	Incolor	Âmbar	Incolor	Incolor
	Velocidade de enchimento (ampola/min)	100	200	160	175	200	200
	Tempo médio de enchimento (h)	0,8	3,8	2,4	6,5	3,6	5,7
Número de etapas		10	12	10	11	10	10
Vias de administração		Subcutânea, epidural, intravenosa	Intramuscular	Intravenosa ou intramuscular	Intramuscular	Intravenosa	Intramuscular, intravenosa ou subcutânea
Análise de risco		3	2	2	7	3	8

Com esta análise dos produtos verifica-se que os produtos propícios a mais contaminações são o Produto D (análise de risco 7), o Produto O (análise de risco 7) e o Produto Q (análise de risco 8).

Sabe-se também que o produto mais crítico na validação de limpeza é o Produto O, por isso este é produto com mais riscos dentro dos produtos de esterilização final.

#### 4.7.2 Processo Assético

Na Tabela 4.21 verifica-se que os produtos mais favoráveis a contaminações são o Produto V (análise de risco 7) e o Produto W (análise de risco 8). Como na validação de limpeza o produto mais crítico é o Produto V, este é o produto mais crítico dentro dos produtos de processo assético.

**Tabela 4.21 - Comparação de produto de processo assético**

Fase do processo	Produtos	Enchimento assético					
		Produto R	Produto S	Produto T	Produto U	Produto V	Produto W
Preparação	Dimensão do lote (L)	150	150	100	150	50	168
	Dimensão do lote (ampolas)	46 875	46 875	18 867	68 181	45 454	76 363
	Volume da cuba de preparação (L)	200	150 ou 200	100	150 ou 200	50	200
	Número de componentes	8	7	5	6	9	5
	Percentagem dos componentes em água	31,6%	30,6%	1,4%	53,8%	54,0%	0,2%
Filtração	Controlo de alteração do pH (baixar e aumentar o pH)	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não
	Volume da cuba de <i>stockagem</i> (L)	100 e 50	100 e 50	100	100 e 50	50	50 e 100
	Número de cubas de <i>stockagem</i>	2	2	1	2	1	3
	Número de filtros utilizados	2	1	2	2	1	2
	Teste de integridade dos filtros (mbar)	> 3400	> 3400	> 3400	> 3400	> 3400	> 3400
Enchimento	Tamanho de poro do filtro (µm)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,6 e 0,2
	Temperatura de lavagem e despirogenização (°C)	320	320	320	320	320	320
	Volume nominal (mL)	3,2	3,2	5,3	2,2	1,15	2,2
	Cor da ampola	Incolor	Incolor	Incolor	Incolor	Âmbar	Incolor
	Velocidade de enchimento (ampola/min)	150-200	150-200	160	200	200	150-200
Vias de administração	Tempo médio de enchimento (h)	4,5-5	4,5-5	2-2,5	5-5,5	5-5,5	6-6,5
	Número de etapas	13	14	11	11	14	12
		Intramuscular	Intramuscular	Intravenosa	Intramuscular	Intramuscular	Intramuscular ou intravenosa
	Análise de Risco	6	6	4	4	7	8

## 4.8 Cartas de Controlo de Parâmetros Ambientais

As cartas de controlo possibilitam verificar se os parâmetros ambientais nas salas mais críticas ao processo de fabrico de soluções injetáveis se encontram em controlo estatístico. Foram realizadas cartas de controlo de média e desvio padrão para três parâmetros ambientais (pressão, humidade relativa e temperatura) para as salas de preparação, filtração e enchimento.

É importante salientar que estes valores são referentes não só ao tempo de produção como a outras atividades, nomeadamente a limpeza, manutenção, sanitização, fumigação, entre outros.

Os limites de especificação superior e inferior dos diferentes parâmetros são os mesmos em todas as salas, como se pode verificar nas tabelas iniciais de cada sala limpa. No entanto deveria haver outros limites de especificação relativamente as outras atividades praticadas no interior das salas críticas.

### 4.8.1 Sala de Preparação

Na sala de preparação, para os parâmetros ambientais estarem em controlo estatístico foi necessário rejeitar 13,78% na pressão, 65,78% na humidade relativa e 48,44% na temperatura (Tabela 4.22).

**Tabela 4.22 - Síntese de parâmetros ambientais na sala de preparação.**

Parâmetros	Carta de controlo	Média	Desvio Padrão	Rejeição de pontos (%)	Limite Inferior de Especificação	Limite Superior de Especificação
<b>Pressão (Pa)</b>	Inicial	11,32	4,91	13,78	5	50
	Final	12,54	4,98			
<b>Humidade Relativa (%)</b>	Inicial	65,97	3,75	65,78	30	55
	Final	66,04	3,78			
<b>Temperatura (°C)</b>	Inicial	19,56	0,48	48,44	18	22
	Final	19,50	0,47			

A Tabela 4.22 mostra que a humidade relativa e a temperatura estão fora do controlo estatístico. As cartas de controlo elaboradas para estes parâmetros não mostravam a credibilidade dos valores uma vez que existe uma elevada percentagem de rejeição de pontos para que estas se encontrem em controlo estatístico (ver anexo A.6). Assim, em substituição das cartas de controlo, apresenta-se histograma de forma a evidenciar que estes parâmetros ambientais não estão dentro dos limites de especificação. É importante frisar que estes limites de especificação estão direcionados para as fases de produção, ou seja não contemplam as outras atividades que decorrem dentro das salas limpas.

Na Figura 4.9 verifica-se que na pressão os limites de controlo do processo tanto o superior como o inferior estão dentro dos limites de especificação definidos.

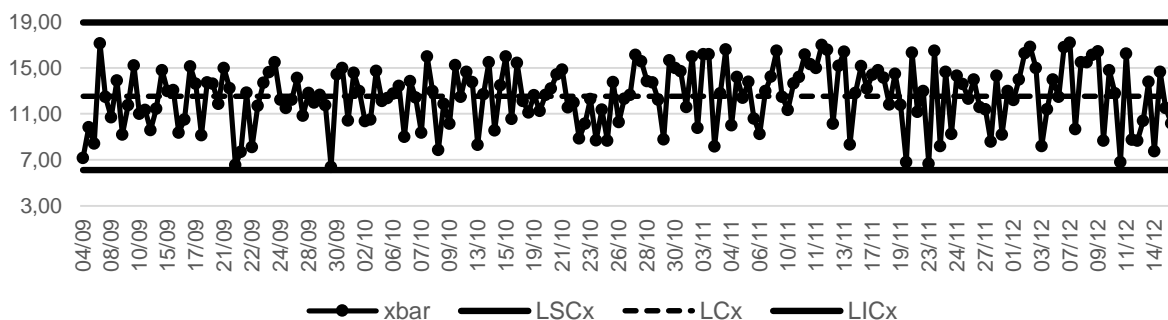


Figura 4.9 - Carta de controlo final da média de pressão.

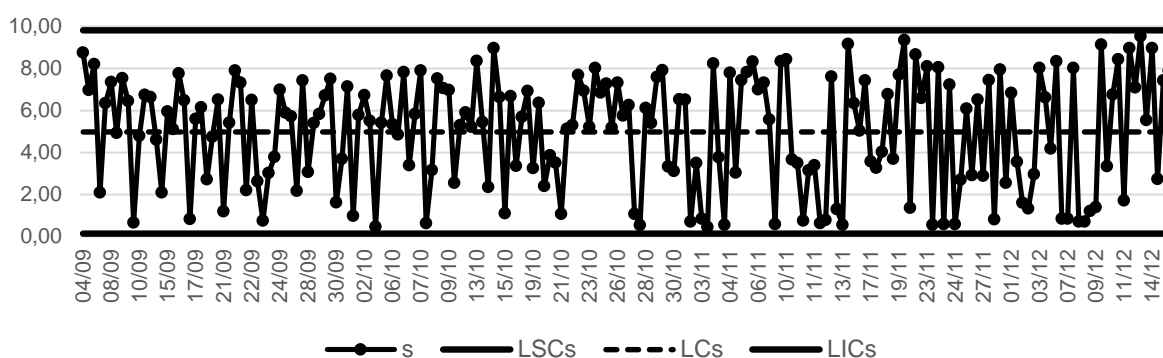


Figura 4.10 - Carta de controlo final do desvio padrão de pressão.

Como se pode verificar na Tabela 4.23 o processo é capaz mas descentrado, ou seja existe uma dispersão suficiente para cumprir as especificações.

Na Tabela 4.23 verifica-se que o valor de  $C_{pki}$  é pequeno, perto de zero, isto indica que a pressão está mais próxima do limite inferior. Assim, uma solução para se aumentar a pressão seria a implementação de um mecanismo de abertura/fecho de porta automático com o intuito de não permitir que a porta se encontre aberta durante grandes períodos de tempo.

Tabela 4.23 - Capacidade do processo de pressão.

CP	1,43
$C_{pki}$	0,48
$C_{pks}$	2,38

A média dos valores da humidade relativa ao longo dos meses analisados é de 66%, ou seja, a média é superior ao limite superior de especificação direccionada para as fases de fabrico, no entanto é importante referir que nestes valores estão incluídos as outras atividades realizadas na sala limpa.

Os valores de humidade relativa nas cartas de controlo finais não eram credíveis e por isso apenas se apresenta os valores em histograma. Na análise da Figura 4.11, é possível visualizar que a maioria dos valores referentes à humidade relativa se encontra acima do limite superior de especificação (cerca de 89.9% dos pontos). Esta elevada percentagem pode ser explicada pelo facto

de na sala de preparação se usar água (estado líquido e vapor) para realizar operações de sanitização e limpeza e pelo facto de se localizar muito próxima da sala de lavagens. Outro aspeto a considerar é recolha de amostras de vapor para controlo microbiológico.

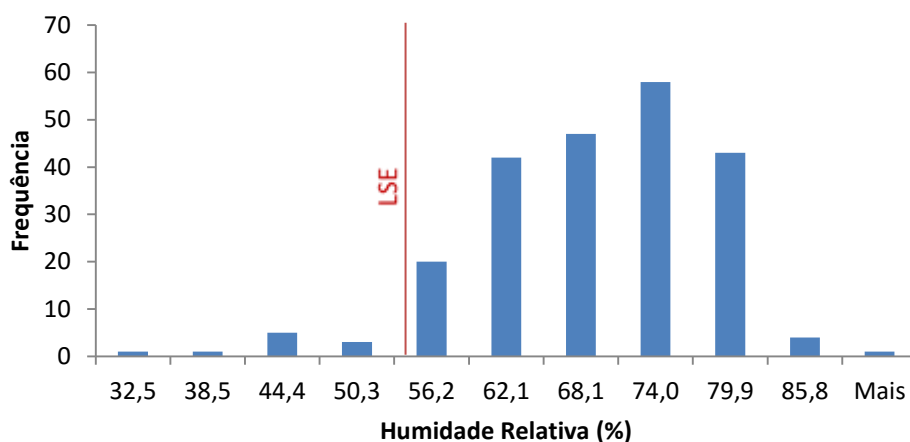


Figura 4.11 - Histograma da humidade relativa (%).

Os limites da carta de controlo da temperatura estão de acordo com os limites de especificação. Na carta de controlo (Figura 4.12 e Figura 4.13) é possível verificar que apenas existe uma variação de 2 valores de graus Celsius que permite que tanto o processo de fabrico na sala de preparação como as condições para o operador se encontram controladas.

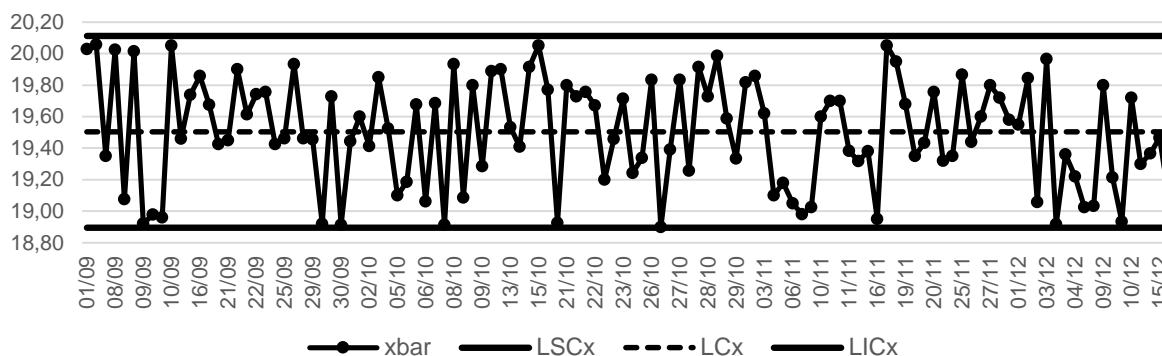


Figura 4.12 - Carta de controlo final da média de temperatura.

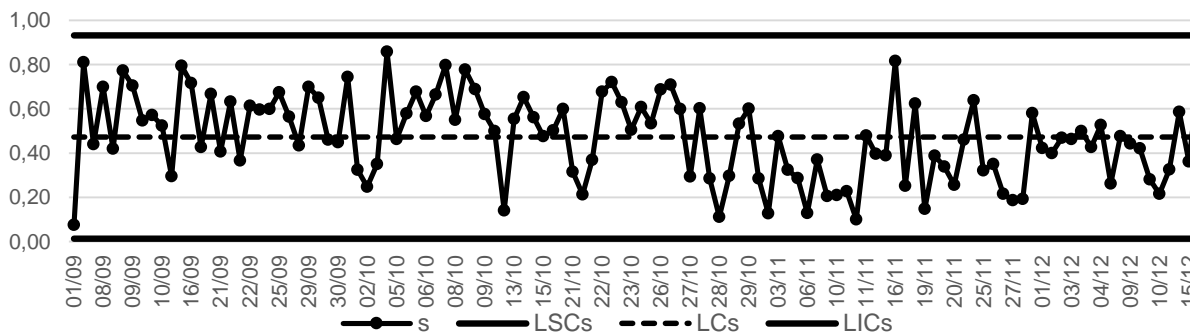


Figura 4.13 - Carta de controlo final do desvio padrão de temperatura.



Na Tabela 4.24 é possível verificar que o processo se encontra capaz mas pouco descentrado e que existe uma margem de valores para se poder atingir o limite inferior e superior de capacidade do processo. Assim, não é necessário implementar nenhuma estratégia.

**Tabela 4.24 - Capacidade do processo de temperatura.**

<b>CP</b>	1,34
<b>Cpki</b>	1,00
<b>Cpks</b>	1,67

#### 4.8.2 Sala de Filtração

A sala de filtração é a sala com maior problemática a nível de controlo estatístico, uma vez que para realizar as cartas de controlo, a percentagem de rejeição de pontos para todos os parâmetros ambientais era elevada, como se pode verificar na Tabela 4.25. Contudo, nesta sala o produto está num circuito fechado, ou seja estes valores fora dos parâmetros predestinados não influenciam diretamente o produto.

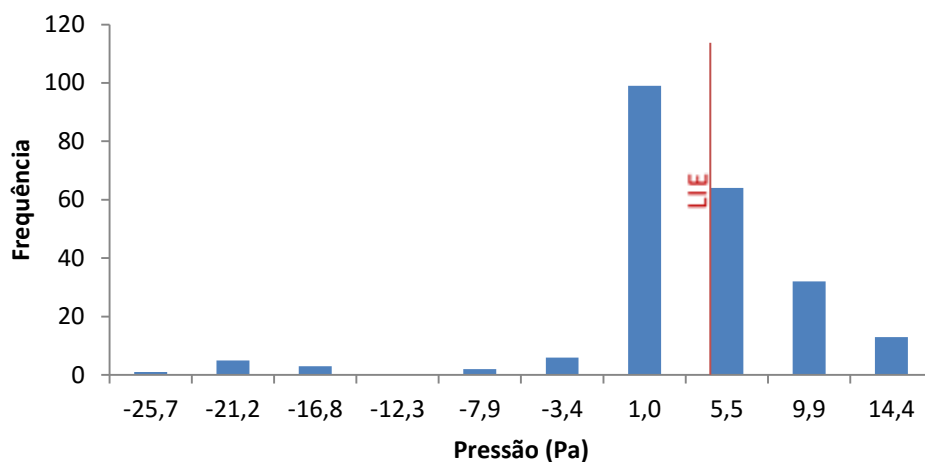
Em seguida, apenas é possível verificar os valores dos parâmetros ambientais através de histogramas. As cartas de controlo encontram-se em anexo (A.6) uma vez não demonstravam resultados reais.

**Tabela 4.25 - Síntese de parâmetros ambientais na sala de filtração.**

<b>Parâmetros</b>	<b>Carta de controlo</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Rejeição de pontos (%)</b>	<b>Limite Inferior de Especificação</b>	<b>Limite Superior de Especificação</b>
<b>Pressão (Pa)</b>	Inicial	1,31	3,72	63,11	5	50
	Final	-0,02	1,89			
<b>Humidade Relativa (%)</b>	Inicial	62,90	4,29	67,11	30	55
	Final	61,17	4,22			
<b>Temperatura (°C)</b>	Inicial	21,07	0,92	90,67	18	22
	Final	20,00	90,67			

A média dos valores de pressão ao longo de 4 meses é 1,31 Pa, o que demonstra que a média é inferior ao limite inferior de especificação, assim apresenta-se os valores de pressão através de um gráfico histograma.

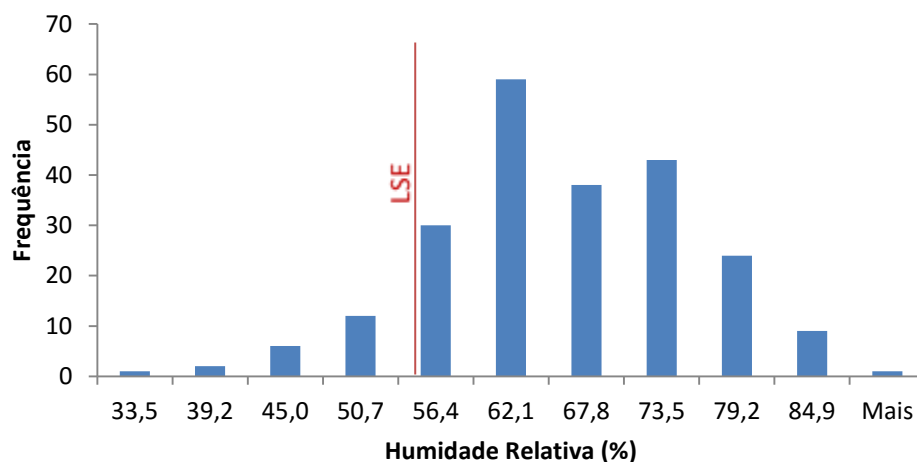
Na análise da Figura 4.14, verifica-se que cerca de 77,8% dos valores se encontram abaixo do limite inferior de especificação. Isto pode ser explicado através da abertura da porta, uma vez que todas as salas (preparação, filtração e enchimento) têm em comum o corredor interno e se todas ou apenas 2 portas estiverem abertas podem provocar valores negativos de pressão. A pressão dentro das salas limpas deve ser sempre superior em relação ao corredor interno e por isso deve-se evitar o bloqueio do mecanismo que só permite abrir a porta se as outras portas das salas limpas estiverem fechadas.



**Figura 4.14 - Histograma de pressão (Pa).**

A média dos valores de humidade relativa é cerca de 63%, que indica que o valor é bastante superior ao limite superior de especificação, sendo apresentados em histograma uma vez que os valores referentes à carta de controlo final não eram fidedignos.

Na Figura 4.15, a grande maioria dos valores de humidade relativa estão elevados em comparação com o limite superior de especificação (81.8%). É importante referir que o limite superior de especificação está só direccionado para as fases de fabrico, por isso não abrange as outras atividades realizadas no interior da sala limpa.



**Figura 4.15 - Histograma de humidade relativa (%).**

Nos valores de temperatura, cerca de 28,9% desses valores está acima do limite superior de especificação (Figura 4.16). Uma solução para a diminuição dos valores de temperatura pode ser o aumento de renovações de ar dentro da sala.

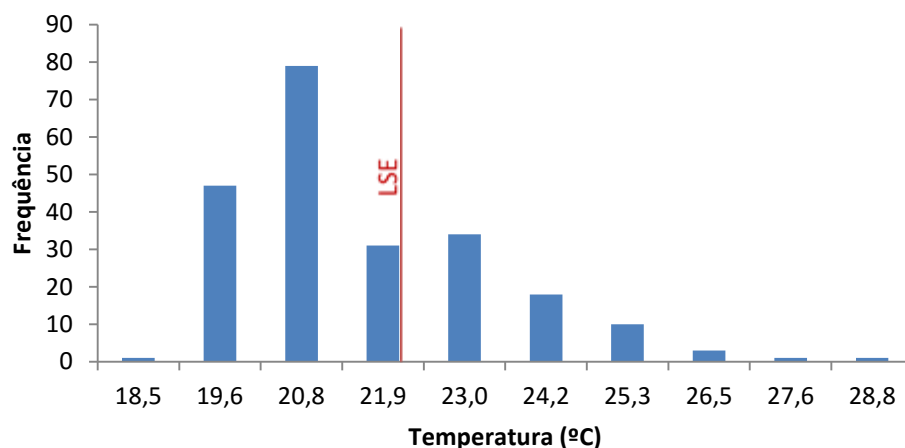


Figura 4.16 - Histograma de temperatura (°C).

### 4.8.3 Sala de Enchimento

Na sala de enchimento, apenas o parâmetro de temperatura é apresentado em carta de controlo, uma vez que a percentagem de rejeição de pontos é inferior a 50% (Tabela 4.26). Contudo é necessário explicar que estes limites de especificação apenas estão os indicados para o tempo de fabrico e estes valores também incluem outras atividades (sanitização, fumigação, entre outros)

Tabela 4.26 - Síntese de parâmetros ambientais na sala de enchimento.

Parâmetros	Carta de controlo	Média	Desvio Padrão	Rejeição de pontos (%)	Limite Inferior de Especificação	Limite Superior de Especificação
Pressão (Pa)	Inicial	13,19	4,88	69,33	5	50
	Final	11,83	2,41			
Humidade Relativa (%)	Inicial	65,14	3,56	65,78	30	55
	Final	66,36	3,44			
Temperatura (°C)	Inicial	20,25	0,57	47,11	18	22
	Final	20,14	0,44			

Na Figura 4.17 verifica-se que cerca de 5,78% dos valores de pressão se encontra abaixo do limite inferior de especificação. Assim, é necessário aumentar a pressão através da implementação de um mecanismo de abertura/fecho automático de portas.

Na humidade relativa, o valor da média também é superior ao limite superior de especificação, tendo uma média de pontos de cerca de 66%.

Em relação à humidade relativa, os valores encontram-se elevados, com cerca de 89,3%, em relação ao limite superior de especificação (Figura 4.18) e como as cartas de controlo finais não eram

fiáveis apenas se apresenta os valores em histograma. Neste valores estão incluídos, para além das fases de fabrico, as outras atividades que se efetuam dentro da sala limpa.

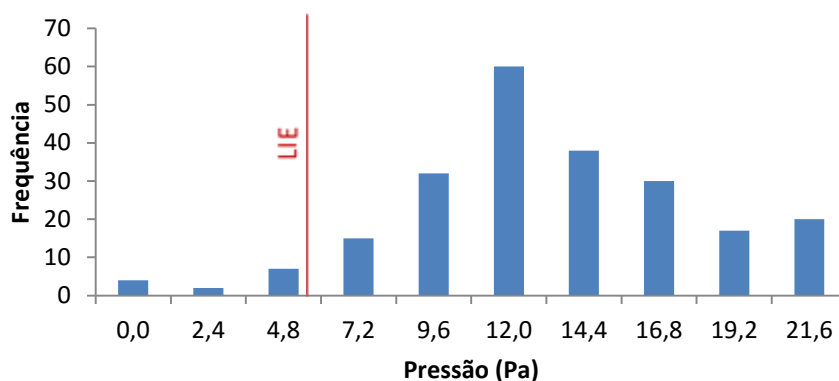


Figura 4.17 - Histograma de pressão (Pa).

Com a análise destes valores é necessário proceder a alterações nas configurações do desumidificador na estação de tratamento de ar para este ser mais eficiente.

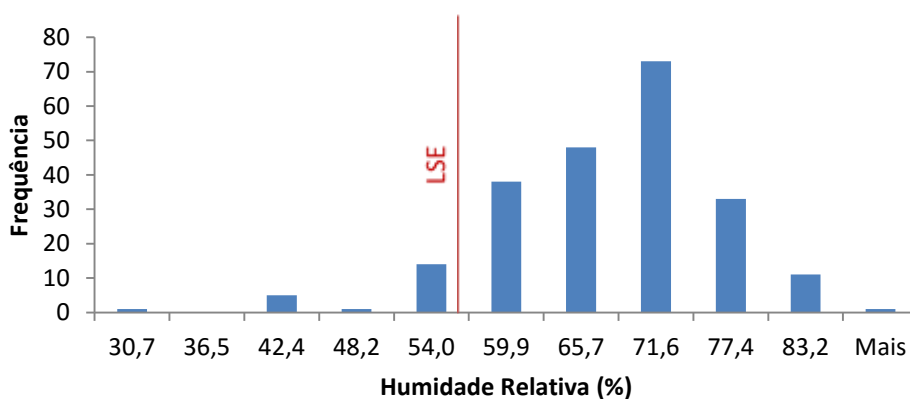
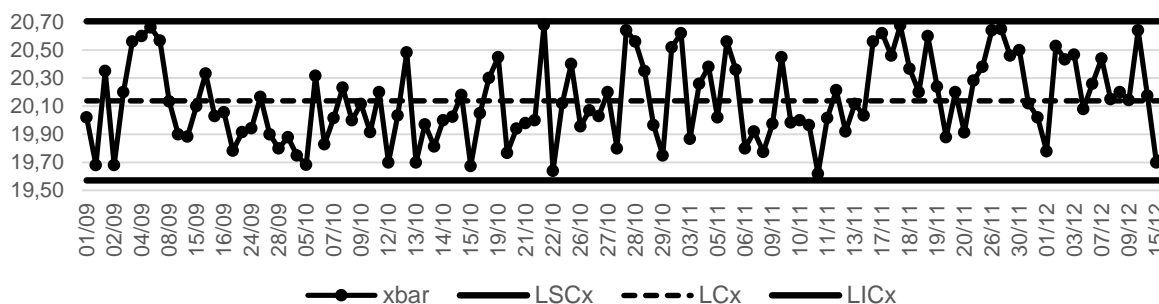
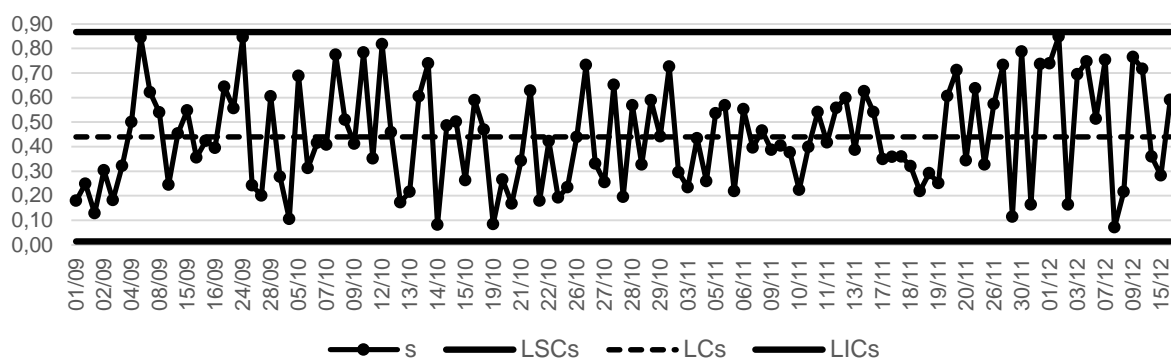


Figura 4.18 - Histograma de humidade Relativa (%).

A temperatura está de acordo com os limites de especificação. Através das cartas de controlo (Figura 4.19 e Figura 4.20) verifica-se que existe pouca variação nos valores de temperatura e que existe pouca dispersão.



**Figura 4.19 - Carta de controlo final da média de temperatura.**



**Figura 4.20 - Carta de controlo final do desvio padrão de temperatura.**

Na Tabela 4.27 é possível verificar que o processo é capaz e quase centrado. Assim este parâmetro encontra-se em controlo estatístico.

**Tabela 4.27 - Capacidade do processo de temperatura.**

<b>CP</b>	1,44
<b>Cpki</b>	1,54
<b>Cpks</b>	1,34



## Conclusões e Trabalhos Futuros

Esta dissertação possibilitou a realização de uma análise detalhada ao setor de soluções injetáveis de pequeno volume dos Laboratórios Vitória S.A..

Através da realização da análise histórica da classificação das salas limpas verificou-se que este setor se encontra conforme o pretendido, sendo apenas detetadas cerca de 10% de contaminações em todas as amostras efetuadas. Em relação à análise histórica das ocorrências de contaminações em diferentes fases de fabrico visualizou-se que existe um aumento de 2014 para 2015 nas análises do controlo microbiológico do ar (principalmente na sala de filtração e no fluxo de ar laminar na sala de filtração) e das superfícies (na sala de filtração). Contudo, no controlo microbiológico das impressões de luvas verificou-se uma diminuição do número de contaminações.

No sentido a identificar o motivo que levou ao aumento das contaminações foram analisados os microrganismos existentes nas amostragens de forma a conhecer a origem e patogenicidade dos diversos microrganismos encontrados.

Em relação ao controlo microbiológico do ar verificou-se que a maioria dos microrganismos encontrados são de origem ambiental (75%) e patogénicos para indivíduos com imunidade reduzida (51%) em 2014 e de origem ambiental (60%) e raramente patogénicos (47%) em 2015. No controlo microbiológico das superfícies a maioria dos microrganismos são de origem ambiental (60%) e não patogénicos (50%) em 2014 e de origem humana (63%) e raramente patogénicos (38%) em 2015. No controlo microbiológico das impressões de luvas, a maioria dos microrganismos são de origem humana em ambos os anos analisados, com 53% e 66% respetivamente. Em relação à patogenicidade, em 2014, os microrganismos patogénicos só para indivíduos com imunidade reduzida detém cerca de 47% e os microrganismos raramente patogénicos 47%. Em 2015, a maioria dos microrganismos eram raramente patogénicos com cerca 60%.

A contaminação ambiental pode ser oriunda do sistema AVAC, da água, do azoto ou do ar comprimido. No sentido a identificar a causa foram efetuadas cartas de controlo de parâmetros ambientais (pressão, humidade relativa e temperatura) das salas críticas ao processo de fabrico. Em relação à contaminação de origem humana existe uma grande incidência nos operadores, nomeadamente pelo número de movimentações e aumento de transpiração.

Com o intuito a contrariar o aumento de contaminações realizou-se uma proposta de um novo *layout* para o setor de soluções injetáveis e uma análise de risco para o processo de simulação de enchimento assético (*Media Fill*).

Também com o propósito de perceber se o número de amostragens do controlo microbiológico realizadas eram suficientes em cada sala limpa do setor de injetáveis realizou-se uma análise de risco dos pontos de amostragem. Em relação às amostragens de controlo microbiológico de superfícies verifica-se que deveria haver mais pontos de amostragem do que realmente se efetua. Assim propôs-se implementar novas localizações de amostragens nas salas críticas (sala de preparação, sala de

filtração e sala de enchimento) do processo de fabrico. Nas amostras de controlo microbiológico do ar por centrifugação também se deveria aumentar o número de pontos de amostragem. Contudo no que diz respeito às amostragens nas salas críticas verifica-se que estão de acordo com o esperado. Na sala de enchimento verifica-se que o número de amostragens é superior ao esperado, revelando que existem amostragens suficientes para controlo de contaminações microbiológicas.

Na tentativa de justificar o aumento das contaminações, além de se proceder à uma auditoria interna do setor, a uma proposta de um novo *layout* e de efetuar as análises de risco do processo e pontos de amostragem realizou-se uma comparação de produtos nos dois processos de fabrico (com esterilização final e processamento assético) de forma a perceber qual o produto mais crítico dentro de cada processo e as medidas que podem ser tomadas de forma a minimizar o risco de contaminação. Na esterilização final o produto mais crítico é o Produto O e no processo assético o Produto V.

As cartas de controlo permitem identificar se os parâmetros ambientais estão em conformidade com as especificações. No entanto não foi possível retirar conclusões à conformidade porque os dados analisados não têm em consideração a atividade que está a decorrer na sala. Essas atividades (limpeza, manutenção, sanitização, fumigação entre outros) não têm que cumprir os limites de especificação direcionados para as fases de produção, assim seria necessário estipular novos valores de limites adequados para estas atividades extras.

Apesar de não se poder concluir quanto à conformidade do setor, a análise aos parâmetros ambientais mostraram que o parâmetro mais crítico ao processo é a humidade relativa. Isto demonstra que existe um desvio ao limite superior de especificação, sendo que valores elevados de humidade relativa são propícios a proliferações microbiológicas. No entanto, a empresa realiza todos os testes necessários de modo a demonstrar que todos os produtos se encontram em conformidade e que a humidade não tem impacto nos produtos.

Com o intuito de melhorar os parâmetros ambientais, nomeadamente a humidade relativa e a temperatura, dever-se-ia realizar modificações no desumidificador e arrefecimento de ar na unidade de tratamento do ar. Em relação à pressão dever-se-ia implementar dois mecanismos, um de abertura/fecho automático de portas e outro evitar o bloqueio do mecanismos que só permite abrir a porta se as outras estiverem fechadas. Contudo, esta análise não pode ser considerada uma conclusão direta aos riscos de produtos.

Concluiu-se que o setor de soluções injetáveis necessita de ações de melhoria, nomeadamente efetuar alterações na sala de filtração, no sistema AVAC, no sistema de abertura/fecho de portas, aumentar alguns pontos de amostragem de controlo microbiológico, implementar intercomunicadores e se possível a construção de um *layout* mais funcional. No entanto, este setor encontra-se em conformidade.

Como sugestão de trabalhos futuros propõe-se uma melhoria da base de dados do AKIVISION, nomeadamente fazer com que os valores estejam de acordo com o tempo de produção, e quando estiverem a ocorrer outras atividades nas salas críticas, modificar os limites de especificação de acordo com a atividade.

Outra proposta futura, além das alterações descritas anteriormente, dever-se-ia realizar uma requalificação aos equipamentos presentes no setor, particularmente a requalificação do túnel de esterilização e despirogenização de ampolas. A implementação de um novo *layout* ou de um novo produto requer a realização de uma nova qualificação e avaliação ao setor de soluções injetáveis.



## Referências Bibliográficas

- [1] C. S. d. Abreu, T. d. J. A. Pinto e D. C. d. Oliveira, "Áreas limpas: estudo de correlação entre partículas viáveis e não viáveis," *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 39, pp. 177-184, 2003.
- [2] U.S. Department of Health and Human Services, *Guidance for Industry - Process Validation: General Principles and Practices*, 1 ed., 2011.
- [3] C. d. V. Lima e C. V. Taveira, "Production of Injectable Drugs in Large Volume," *Cenarium Farmacêutico*, Ano 4, 2011.
- [4] J. M. N. d. M. Santos, "A Competitividade Das Exportações Da Indústria Farmacêutica Portuguesa," Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.
- [5] J. P. S. Dias, "História da Farmácia em Portugal". *Ordem dos Farmaceuticos*.
- [6] Apifarma - Associação portuguesa da indústria farmacêutica, "Apifarma," [Online]. Available: <http://www.apifarma.pt/indicadores/Portugal/Paginas/default.aspx>. [Acedido em 2015 novembro 27].
- [7] Infarmed - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P., "Infarmed," [Online]. Available: [http://www.infarmed.pt/portal/pls/portal/!PORTAL.wwpob\\_page.show?\\_docname=8844267.PDF](http://www.infarmed.pt/portal/pls/portal/!PORTAL.wwpob_page.show?_docname=8844267.PDF). [Acedido em 2015 Novembro 27].
- [8] Laboratórios Vitória S.A., "Laboratórios Vitória - Quem Somos," 2015. [Online]. Available: <http://www.labvitoria.pt/pt/quemsomos?mt=2>. [Acedido em 5 outubro 2015].
- [9] FAES FARMA, "FAES FARMA - Quem Somos," 2015. [Online]. Available: <http://faesfarma.com/sobre-faes-farma/quienes-somos/>. [Acedido em 5 outubro 2015].
- [10] H. R. F. Cassis, "Manual da Empresa Laboratórios Vitória," 2015.
- [11] A. Bassi, "Soluções Parenterais de Grande Volume: avaliação da estabilidade da solução e qualidade física e química da embalagem primária," Ribeirão Preto, 2012.
- [12] G. Rosenberg, "A ISO 9001 na Indústria Farmacêutica: uma abordagem das boas práticas de fabricação," pp. 35-40, 2000.
- [13] European Commission, *EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use: Chapter 1 -Pharmaceutical Quality System*, vol. 4, 2013, pp. 1-8.

- [14] V. C. Dutra, Dossier Técnico-Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, REDETEC, 2011.
- [15] PIC/S, Guide To Good Manufacturing Practice For Medicinal Products, Part I, PIC/S Secretaria, 2014.
- [16] E. A. d. Oliveira, M. E. Labra e J. Bermudez, “A produção pública de medicamentos no Brasil: Uma Visão Geral,” Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2006.
- [17] A. P. Dias, “Guia de Preparação e Administração de Medicamentos por Via Parentérica,” 2010. [Online]. Available: [http://www.injectaveis.com/vias\\_administracao.html](http://www.injectaveis.com/vias_administracao.html). [Acedido em 23 setembro 2015].
- [18] H. Ansel, Farmacotécnica, Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos, 6ª ed., São Paulo: Premier, 2000, p. 568.
- [19] M. Monteiro e M. Gotardo, “Ftalato de di-(2-etilexila) (DEHP) em bolsas de PVC para soluções parenterais de grandes volumes,” *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, vol. 26, pp. 9-18, 2005.
- [20] L. N. Prista, Tecnologia Farmacêutica, 6ª ed., vol. 1, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003.
- [21] Agência Nacional de Vigilância Sanitária, “Resolução RDC Nº 17- Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos,” 16 Abril 2010. [Online]. Available: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017\\_16\\_04\\_2010.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017_16_04_2010.html). [Acedido em 2 Outubro 2015].
- [22] International Organization for Standardization, “ISO 9000 - Quality System - Parte I,” 2015.
- [23] EudraLex - Volume 4 Good manufacturing practice (GMP) Guidelines, “Part II - Basic Requirements for Active Substances used as Starting Materials,” 2014.
- [24] International Organization for Standardization, “ISO 13408 - Aseptic processing of health care products, Part 1: General requirements,” 2008.
- [25] R. Girão e R. Tempero, “Qualificação de Equipamentos e Sistemas,” 012.
- [26] C. Rokembach, “Proposta para a Elaboração de um Plano Mestre de Validação de Processos Farmacêuticos,” 2004.
- [27] Agência Nacional de Vigilância Sanitária, “Guias Relacionados à Garantia de Qualidade,” 2006.
- [28] EudraLex - Volume 4 Good manufacturing practice (GMP) Guidelines., “Part I - Basic Requirements for Medicinal Products,” 2013.
- [29] L. Torres, “Qualificação de Equipamentos e Utilidades Farmacêuticas,” 2011.
- [30] T. Sandle, “Environmental Monitoring Risk Assessment,” Institute of Validation Technology, 2006.
- [31] International Organization for Standardization, “ISO 14644 Cleanrooms and Associated Controlled Environments, Part I - Classification of Air Cleanliness,” 1999.
- [32] International Organization for Standardization, “ISO 14644 - Cleanrooms and Associated

- Controlled Environments, Part 5 - Operations,” 2004.
- [33] EudraLex - Volume 4 Good manufacturing practice (GMP) Guidelines, “Annex 1 - Manufacture of Sterile Medicinal Products,” 2008.
- [34] Agência Nacional de Vigilância Sanitária, “Guia de Qualidade para Sistemas de Tratamento de Ar e Monitoramento Ambiental na Indústria Farmacêutica,” 2013.
- [35] International Organization for Standardization, “ISO 14698 - Cleanrooms and associated controlled environments - Biocontamination control, Part I - General principles and methods,” 2003.
- [36] I. T. d. Carvalho, Microbiologia Básica, UFRPE/CODAI, 2010.
- [37] G. Tortora, B. Funke e L. Case, Microbiologia, 8ª ed., Porto Alegre: Artmed Editora, 2005, pp. 1-25.
- [38] Regnum Prokaryotae - ABIS Online Encyclopedia, “The Great Bacteria Book,” [Online]. [Acedido em novembro 2015].
- [39] E. Majer, “Análise Microbiológica de Alimentos e Água, Guia para o Controlo de Qualidade,” 2003.
- [40] Laboratórios Vitória S.A., “Procedimento Técnico - Preparação, Controlo e Manutenção dos meios de cultura,” 2013.
- [41] Organização Mundial de Saúde, “Manual de Segurança Biológica em Laboratório,” Genebra, 2004.
- [42] Technical Order, “Contamination Control of Aerospace Facilities,” U.S Air Force, 1972.
- [43] J. Sharp, Good Pharmaceutical Manufacturing, CRC Press, 2005, pp. 327- 450.
- [44] T. M. V. P. Valente, “Unidade de elevado débito de produção de azoto po PSA,” Porto, 2009.
- [45] C. Sbarai, “Águas Farmaceuticas,” Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação.
- [46] Decreto-lei nº 306/2007 Anexo I, “Qualidade da Água Destinada a Consumo Humano,” 27 Agosto 2007.
- [47] “Farmacopeia Europeia - Água purificada e Água para Preparação de Injetáveis,” 2013.
- [48] A. R. C. Cabaço, “A Validation Master Plan for Small Volume Parenterals,” Coimbra, 2014.
- [49] U.S. Department of Health and Human Services, “Guidance for Industry - Sterile Drug Products - Produced by Aseptic Processing - Current Good Manufacturing Practice,” Pharmaceutical CGMPs, 2004.
- [50] H. Shintani, Validation of Sterilization Procedures and Usage of Biological Indicators in the Manufacture of Healthcare products, BiocontrolScience, 2011, pp. 85-94.
- [51] International Organization for Standardization, “ISO 17665 - Sterilization of health care products - Moist heat, Part 1: Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices,” 2006.

- [52] International Organization for Standardization, "ISO 20857 -Sterilization of health care products - Dry heat - Requirements for the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices," 2010.
- [53] A. P. d. Lima, "Avaliação das Condições Práticas para o Cumprimento de Normas Aplicadas a Validação de Processamento Asséptico," Anápolis/GO, 2014.
- [54] PDA – Parenteral Drug Association, Inc, "Process Simulation for Aseptically Filled Products," 2011.
- [55] J. Requeijo e Z. Pereira, Qualidade: Planeamento e Controlo Estatístico de Processos, Lisboa: Fundação da FCT-UNL, 2012.
- [56] International Organization for Standardization, "ISO 8258 - Shewhart control charts," 1991.
- [57] Comissão Europeia Direcção-Geral das Empresas e da Indústria, "Eudralex - Gestão de Riscos de Qualidade," vol. 4, pp. 1-26, 2008.
- [58] V. David e H. Bill, "Risk Management Analysis Techniques for Validation Programs," pp. 7-8, 2004.
- [59] D. Rodrigues, E. Matschulat, V. Dorneles e T. Mugge, "Análise de Modo e Efeito de Falha Potencial - FMEA -Apostila e Tabelas Recomendadas para Severidade Ocorrência e," 2010.
- [60] J. R. S. Moreira, "Análise de riscos para priorizar auditorias em fornecedores de material de embalagem secundária do setor farmacêutico: o estudo de caso Bio-Manguinhos como instituição pública," pp. 52-54, 2013.
- [61] B. P. E. F. d. Almeida, "Estudo da Metodologia RAMS," 2011.
- [62] C. Scapin, "Análise Sistemática de Falhas," Editora de Desenvolmenti Gerencial, 1999.
- [63] A. Carvalho, "Consolidação de Conceitos de Gerenciamento de Riscos - Análise de Risco," pp. 6-11, 2009.
- [64] D. A. LeBlanc, Validated Cleaning Technologies for Pharmaceutical Manufacturing, Interpharm /CRC, 2000, p. 3.
- [65] B. V. M. Esteves Mourato, "Controlo de Qualidade de Formas Farmacêuticas Estéreis," Lisboa, 2013.



## Anexos

Os anexos a seguir representados servem para complementar este trabalho.

O anexo A.1 descreve o funcionamento de uma estação de tratamento de águas, no qual é possível visualizar na figura A.1.1 como se processa o tratamento da água de rede e na figura A.1.2 o tratamento da água purificada e da água para preparações de injetáveis.

O anexo A.2 contém a tabela A.2.1 referente aos fatores utilizados em fórmulas de cálculo para construir as cartas de controlo, nomeadamente para o cálculo dos limites superior e inferior de controlo e da linha central.

No anexo A.3 as tabelas A.3.1 e A.3.2 representam os dados históricos de microrganismo referentes às contaminações que servem de base para os gráficos demonstrados no capítulo 4 deste trabalho e as tabelas A.3.4, A.3.5 e A.3.6 são referentes a dados históricos das contaminações de controlo microbiológico nas diferentes fases de produção nas amostragens de ar, superfície e de impressões de luvas, respetivamente. Por fim, a tabela A.3.7 representa o número total de amostragens realizadas.

O anexo A.4 inclui a lista completa (*Check list*) das normas ISO efetuada neste trabalho com o intuito de realizar uma auditoria interna ao setor de soluções injetáveis. Nesta lista é possível verificar as conformidades ou as ações a melhorar em cada tópico contendo a respetiva justificação.

Relativamente ao anexo A.5, a tabela A.5.1 serve de auxílio para a realização da análise de risco aos pontos de amostragens do controlo microbiológico.

No anexo A.6 é possível visualizar todas as cartas de controlo com valores iniciais efetuadas para os parâmetros ambientais em cada sala crítica e algumas cartas de controlo de valores finais que não eram credíveis (humidade na sala de preparação; pressão, humidade e temperatura na sala de filtração; e humidade e pressão na sala de enchimento), por isso não foram apresentadas no capítulo 4. Optou-se por apresentar os valores iniciais destes parâmetros através de histogramas.



## A.1 Esquema de funcionamento de uma ETA

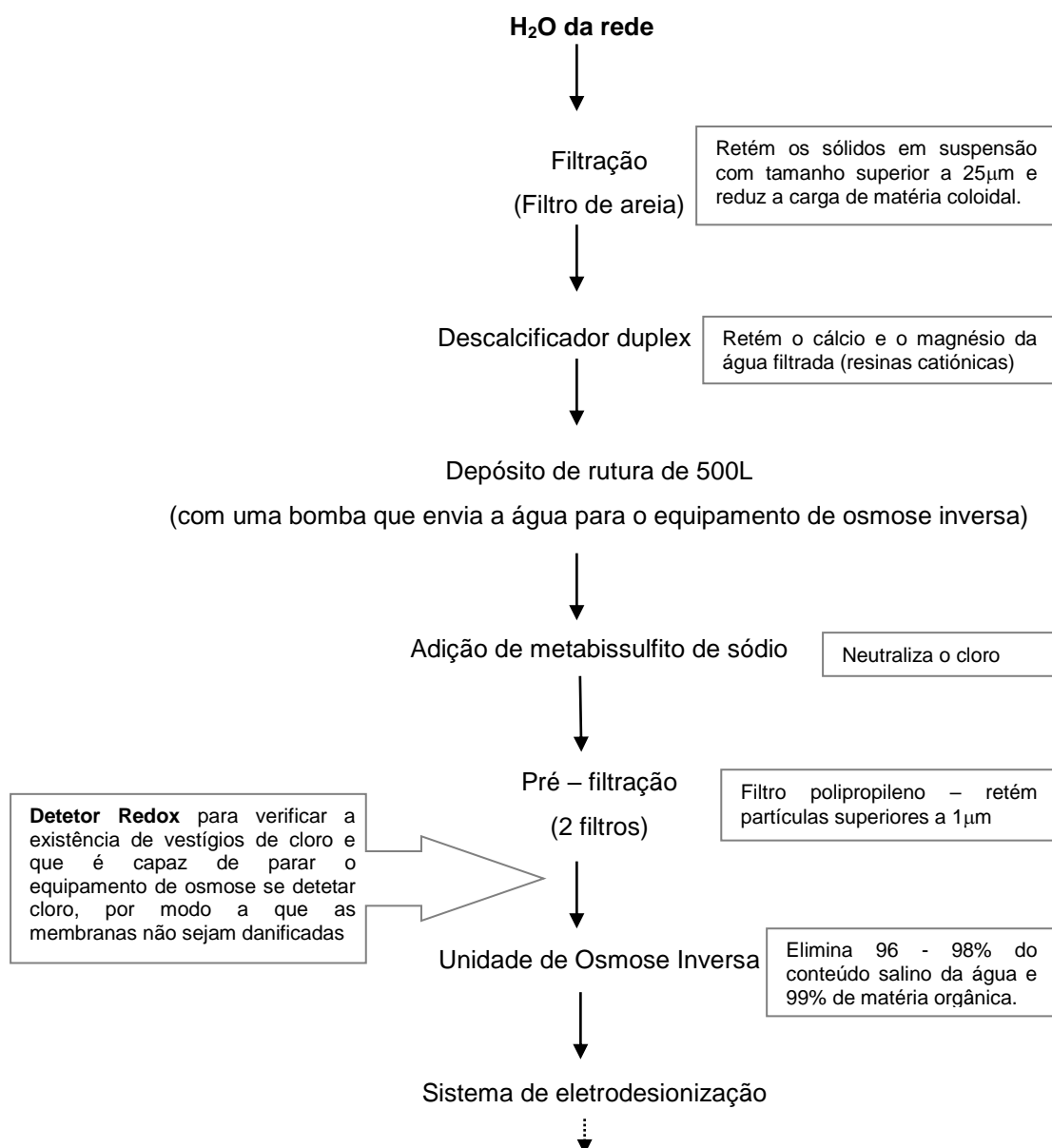


Figura A.1.1 - Esquema de funcionamento da estação de tratamento de águas.

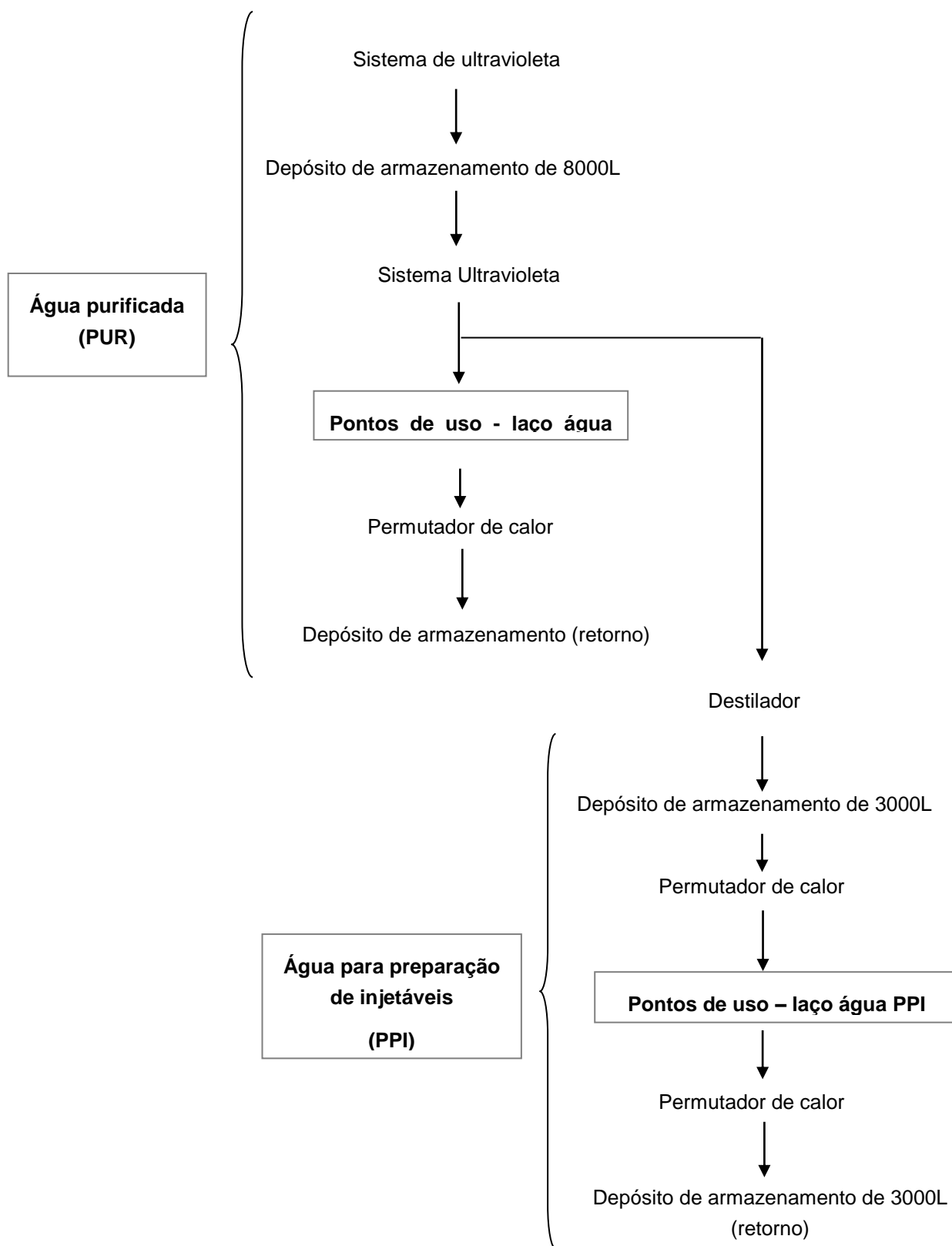


Figura A.1.2 - Continuação do esquema de funcionamento da estação de tratamento de águas.



## A.2 Fatores para construção de Cartas de Controlo de variáveis

Tabela A.2.1 - Fatores para construção de cartas de controlo de variáveis [55].

Dimensão Amostra $n$	Carta da Média					Carta do Desvios Padrão			
	Factores Limites Controlo			Factores Linha Central		Factores para Limites de Controlo			
	A	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	d <sub>2</sub>	c <sub>4</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>4</sub>	B <sub>5</sub>	B <sub>6</sub>
2	2,121	1,881	2,659	1,128	0,7979	0	3,267	0	2,606
3	1,732	1,023	1,954	1,693	0,8862	0	2,568	0	2,276
4	1,500	0,729	1,628	2,059	0,9213	0	2,266	0	2,088
5	1,342	0,577	1,427	2,326	0,9400	0	2,089	0	1,964
6	1,225	0,483	1,287	2,534	0,9515	0,030	1,970	0,029	1,874
7	1,134	0,419	1,182	2,704	0,9594	0,118	1,882	0,113	1,806
8	1,061	0,373	1,099	2,847	0,9650	0,185	1,815	0,179	1,751
9	1,000	0,337	1,032	2,970	0,9693	0,239	1,761	0,232	1,707
10	0,949	0,308	0,975	3,078	0,9727	0,284	1,716	0,276	1,669
11	0,905	0,285	0,927	3,173	0,9754	0,321	1,679	0,313	1,637
12	0,866	0,266	0,886	3,258	0,9776	0,354	1,646	0,346	1,610
13	0,832	0,249	0,850	3,336	0,9794	0,382	1,618	0,374	1,585
14	0,802	0,235	0,817	3,407	0,9810	0,406	1,594	0,399	1,563
15	0,775	0,223	0,789	3,472	0,9823	0,428	1,572	0,421	1,544
16	0,750	0,212	0,763	3,532	0,9835	0,448	1,552	0,440	1,526
17	0,728	0,203	0,739	3,588	0,9845	0,466	1,534	0,458	1,511
18	0,707	0,194	0,718	3,640	0,9854	0,482	1,518	0,475	1,496
19	0,688	0,187	0,698	3,689	0,9862	0,497	1,503	0,490	1,483
20	0,671	0,180	0,680	3,735	0,9869	0,510	1,490	0,504	1,470
21	0,655	0,173	0,663	3,778	0,9876	0,523	1,477	0,516	1,459
22	0,640	0,167	0,647	3,819	0,9882	0,534	1,466	0,528	1,448
23	0,626	0,162	0,633	3,858	0,9887	0,545	1,455	0,539	1,438
24	0,612	0,157	0,619	3,895	0,9892	0,555	1,445	0,549	1,429
25	0,600	0,153	0,606	3,931	0,9896	0,565	1,435	0,559	1,420



## A.3 Controlo Microbiológico

Tabela A.3.1 - Dados históricos das amostragens de controlo microbiológico - microrganismos.

Microrganismos	2014			2015		
	Fardamento	Ar	Superfície	Fardamento	Ar	Superfície
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	3			1		1
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	6	3		10	10	2
<i>Aerococcus viridans</i>				1		
<i>Aeromonas salmonicida</i>	8	4		10	5	
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	2					
<i>Bacillus thuringiensis</i>	2			4	1	
<i>Bacillus choshinensis</i>	1					
<i>Bacillus lentus</i>	2					
<i>Bacillus megaterium</i>				1		
<i>Bacillus simplex</i>	2			1		
<i>Bacillus smithii</i>	3					
<i>Brevibacillus choshinensis</i>	3		1			
<i>Brevundimonas diminuta</i>	10	9	4	2	11	
<i>Brucella melitensis</i>	2			1		
<i>Burkholderia cepacia</i> group	2					
<i>Candida parapsilosis</i>	3		1	1		2
<i>Chromobacterium violaceum</i>			1			
<i>Cronobacter sakazakii</i> group				1	2	
<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	6	8	1	4	12	2
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	3	1	1	1		
<i>Escherichia coli</i>	3	1			2	
<i>Granulicatella adiacens</i>	2					
<i>Helcococcus kunzii</i>	1					
<i>Klebsiella pneumoniae</i>					12	
<i>Kocuria Kristinae</i>	2	8		5		1
<i>Kocuria rosea</i>	7	3		8	5	2
<i>Kocuria varians</i>	15	14		11	13	2
<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	2					
<i>Methylobacterium</i> spp	3			2		1
<i>Micrococcus lylae</i>	53	44	1	37	27	2
<i>Moraxella</i> group	1			2		
<i>Myroides</i> spp		2	1			
<i>Pantoea</i> spp					1	

**Tabela A.2.2 - Continuação dos dados históricos das amostragens de controlo microbiológico – microrganismos.**

Microrganismos	2014			2015		
	Fardamento	Ar	Superfície	Fardamento	Ar	Superfície
<i>Pasteurella multocida</i>	1			2		
<i>Pasteurella pneumotropica</i>	2	1				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			1	1		
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	2		1		1
<i>Pseudomonas luteola</i>		1		1		1
<i>Pseudomonas oryzae</i>	3		1	2		
<i>Pseudomonas putida</i>	1					
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	2			1	3	
<i>Rhizobium radiobacter</i>		1		1		
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	4			1		
<i>Roseomonas gilardii</i>				2	1	
<i>Serratia marcescens</i>	1			1	1	
<i>Serratia plymuthica</i>				1		
<i>Shewanella putrefaciens</i>		2				
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>			1		1	
<i>Sphingobacterium thalpophilum</i>	2					
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	35	16		18	24	2
<i>Staphylococcus hominis</i>	23	12		41	35	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	2		3	1	
<i>Staphylococcus auricularis</i>	2	2		4	5	
<i>Staphylococcus capitis</i>	9	4		10	6	3
<i>Staphylococcus cohnii</i>	6	3	1	10	7	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	34	13	1	27	18	
<i>Staphylococcus equorum</i>	2			1	1	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	9	3		4	6	1
<i>Staphylococcus intermedius</i>	1			1		
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	2	1		3	3	
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	13	3	3	10	7	4
<i>Staphylococcus vitulinus</i>						
<i>Staphylococcus warneri</i>	16	6	2	18	6	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		1		3	1	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		2		1	1	
<i>Staphylococcus xylosus</i>	3				2	

**Tabela A.3.3 - Dados históricos do controlo microbiológico do ar – fase do processo.**

<b>Fase do Processo</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>
Preparação	0	1
Filtração	0	11
Enchimento	4	3
Fluxo laminar Filtração	-	4
Fluxo laminar Enchimento	-	3
Soma	4	22
Total	142	148

**Tabela A.3.4 - Dados históricos do controlo microbiológico das superfícies – fase do processo.**

<b>Fase do Processo</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>
Preparação	0	0
Filtração	0	1
Enchimento	1	1
Soma	1	2
Total	43	43

**Tabela A.3.5 - Dados históricos do controlo microbiológico das impressões de luvas – fase do processo.**

<b>Fase do Processo</b>	<b>2014</b>	<b>2015</b>
Preparação	7	8
Filtração	7	5
Enchimento	11	4
Soma	25	17
Total	154	158

**Tabela A.3.6 - Número total de amostragens.**

<b>Total de Amostragens</b>	<b>Anos</b>	<b>1º Trimestre</b>	<b>2º Trimestre</b>	<b>3º Trimestre</b>	<b>Total</b>
<b>Ar</b>	2014	67	29	46	142
	2015	46	63	49	148
<b>Vestuário</b>	2014	82	30	42	154
	2015	46	63	49	158
<b>Superfícies</b>	2014	19	11	13	43
	2015	13	15	15	43



## A.4 Auditoria Interna - Check List

Tabela A.4.1 - *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).

Requisitos	Conformidade	Justificação
ISO 14644		
Classificação da limpeza do ar por concentração de partículas		
As salas limpas estão qualificadas (Classe A, B, C, D)	Conforme	Relatório da Trade Labor
Descrição do estado operacional no qual é aplicado a classificação (em construção, repouso ou funcionamento)	Conforme	
Tamanhos de partícula dentro dos parâmetros 0,5 a 5,0 µm	Conforme	
Procedimentos de testes e documentação de resultados realizados	Conforme	
Relatório dos resultados do teste com uma declaração de conformidade	Conforme	
Realização de teste de fluxos de ar (volume, velocidade, uniformidade do ar e fluxo de ar unidirecional);	Conforme	Segundo a equação da ISO 13408 (NL=(A)^(1/2))
As áreas das salas limpas têm o número mínimo de pontos de amostragem correspondente	Ação a melhorar	
A sonda de amostragem está posicionada apontando para o fluxo de ar	Conforme	
Especificações para monitorização e testes periódicos para provar a conformidade contínua		
Realização da monitorização	Conforme	Procedimento técnico
Realização de testes periódicos	Conforme	
Realização de registos	Conforme	
Realização de parâmetros de teste	Conforme	
Realização da calibração de instrumentos	Conforme	
Realização de ações corretivas	Ação a melhorar	Para implementar
Métodos de teste		
Realização de teste de fluxo de ar	Conforme	Relatório da Trade Labor
Realização de teste de diferença de pressão	Conforme	
Realização de teste de vazamento do sistema de filtragem	Conforme	

**Tabela A.4.2 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

<b>Requisitos</b>	<b>Conformidade</b>	<b>Justificação</b>
Realização de teste de direção do fluxo de ar com visualização	Conforme	Relatório da Trade Labor
Realização de teste de uniformidade de humidade e temperatura	Ação a melhorar	Existem alguns valores fora do intervalo
Realização de teste de gerador de iões electrostáticos	Ação a melhorar	Para implementar
Realização de teste de deposição das partículas	Conforme	Relatório da Trade Labor
Realização de teste de recuperação (troca de ar)	Conforme	
Realização de teste de vazamento de contenção	Ação a melhorar	Para implementar
<u>Projeto, construção e iniciação</u>		
Planeamento do processo	Não aplicável	-
Realização do projeto	Não aplicável	-
Realização e aprovação de testes	Não aplicável	-
Realização de uma documentação adequada	Não aplicável	-
Instruções operacionais adequadas	Conforme	Procedimento técnico
Instruções para monitorização de desempenho adequada	Conforme	
Instruções de manutenção adequada	Conforme	
Registo de manutenção adequado	Conforme	
Registo da formação de operação e manutenção adequado	Conforme	
Visualização e registo de padrões de fluxo de ar - unidirecional nas salas de classe A e B	Conforme	Relatório e vídeo da Trade Labor
Verificação se a velocidade de deslocamento do fluxo laminar é de 0,2 m/s	Conforme	Relatório da Trade Labor
Verificação se o diferencial de pressão entre 5 e 20 Pa	Ação a melhorar	Carta de controlo
<i>Layout da instalação</i>		
A instalação possui um tamanho adequado (mínimo praticável)	Conforme	Áreas do <i>layout</i>



**Tabela A.4.3 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

<b>Requisitos</b>	<b>Conformidade</b>	<b>Justificação</b>
Implementação e organização da estação de trabalho (áreas de risco instaladas longe das entradas e saídas e que não ocorra a interrupção do padrão de fluxo de ar)	Conforme	Áreas do <i>layout</i>
Integração nos serviços de utilidade, limpeza, preparação e WC nas áreas auxiliares	Conforme	
Ausência de tubagens, cabos e tubos expostos	Conforme	Verificação no local
As torneiras e conexões foram projetadas de modo a facilitar a recolha e a limpeza	Conforme	
Realização de limpeza a vácuo de equipamentos	Ação a melhorar	Autoclave e vapor
O sistema de fumigação tem em atenção aos equipamentos e operadores localizados na sala	Ação a melhorar	Químico (peróxido) está a corroer o material/equipamento
Meios de recolha e evacuação de fluidos libertados pelo sistema de aspersão são adequados	Conforme	Verificação no local
Existência de sistemas de comunicação para minimizar a fala e movimentos das pessoas para dentro e fora da sala limpa. (Janelas, painéis, intercomunicadores e telefones são os mais adequados)	Ação a melhorar	Não existe intercomunicador
Os sistemas de comunicação foram concebidos para facilitar a limpeza	Ação a melhorar	
O <i>design</i> da área de processamento asséptico foi realizado de modo a minimizar as superfícies horizontais para permitir uma desinfeção adequada de tetos, pavimentos, paredes	Conforme	Verificação no local
O <i>layout</i> de equipamentos na APA facilita ao operador e pessoal de manutenção a eliminação ou minimização de barreiras.	Conforme	
Ausência de janelas para o exterior de modo a evitar a perda de calor, a luz solar e a condensação	Conforme	Planta do setor de soluções injetáveis
As janelas para dentro de salas adjacentes que permite a observação da atividade dentro da sala são seladas e não permitem a sua abertura nem o uso de persianas.	Conforme	
O número de acessos às salas limpas ou áreas exteriores é minimizado	Conforme	
As câmaras intermédias mantêm o diferencial de pressão e a integridade do espaço	Conforme	Planta do setor de soluções injetáveis e relatório da Trade Labor
É efetuada uma avaliação da produção, armazenagem e sistemas de distribuição do processo de utilidades (água purificada, PPI, ar comprimido, vapor limpo, <i>CIP</i> )	Conforme	<i>Site Master File</i>

**Tabela A.4.4 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

<b>Requisitos</b>	<b>Conformidade</b>	<b>Justificação</b>
O vestiário tem espaço suficiente para a colocação e remoção de roupas especializadas e inclui uma zona de lavagem e desinfecção	Conforme	Procedimento técnico
As zonas de entrada e saída de pessoas no vestiário são separadas por tempo ou por zonas diferentes de entrada e saída	Ação a melhorar	<i>Layout</i>
O vestiário é dividido em 3 zonas: zona de entrada, zona de transição e zona de acesso/inspeção	Conforme	Planta do setor de injetáveis
Existem disposições no vestuário que permitem o armazenamento e eliminação de vestuário e acessórios (luvas, máscaras, óculos de proteção, sapatos), armazenamento de itens pessoais, lavatório e secador, exibição da sequência de vestuário e espelhos de corpo inteiro	Ação a melhorar	Não existe secador
<b>Construções e materiais</b>		
Os materiais são resistentes à abrasão e ao impacto	Conforme	Verificação no local
Os materiais são resistente aos métodos de limpeza e desinfecção e às frequências destes métodos	Conforme	
Os materiais são resistentes ao ataque químico, microbiológico e corrosão	Conforme	
Teve-se em atenção a compatibilidade química de todos os materiais utilizados com os requisitos de funcionamento (escolha de vedantes, adesivos, materiais de montagem de filtro e vedações)	Conforme	
Os materiais e revestimentos são apropriados às superfícies internas do sistema de tratamento de ar	Conforme	
Os materiais são resistentes aos efeitos mecânicos e químicos a fim de permanecerem lisos e não porosos.	Conforme	
Na limpeza de paredes, pisos e tetos, a escolha de material foi realizada de acordo com o tipo de junção/ligação de modo a evitar a infiltração de humidade	Conforme	
As paredes, pisos e teto cumprem os regulamentos relativos a incêndios, isolamento térmico e sonoro	Conforme	
O teto é selado para evitar a entrada de partículas contaminantes a partir do espaço em cima	Conforme	
Filtros, molduras de filtros, caixas de filtro, difusores e lâmpadas são selados e equipados ao nível do teto.	Conforme	
As barreiras utilizadas para orientar o fluxo de ar e o material são resistentes aos agentes de limpeza	Conforme	

**Tabela A.4.5 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

<b>Requisitos</b>	<b>Conformidade</b>	<b>Justificação</b>
Os pontos de penetração (utilidades, borrifador e iluminação) são os mínimos possíveis e selados	Conforme	Verificação no local
Iluminadores e aspersores são localizados de modo a evitar as perturbações de fluxo de ar	Conforme	
As paredes têm resistência ao impacto e à abrasão	Conforme	
As vedações são arredondadas para facilitar a limpeza e limitar a retenção de contaminantes	Conforme	
O piso é não poroso e é resistente ao deslizamento e à abrasão	Conforme	
O piso é resistente a produtos químicos (produtos de limpeza, desinfecção e fluidos acidentais dos processos)	Conforme	Utilização de aço inoxidável, revestimentos de polímeros
As paredes e tetos são constituídos por materiais de aço inoxidável, alumínio anodizado, polímeros ou revestimentos de polímeros	Conforme	
O piso é revestido com polímeros	Conforme	Verificação no local
<b>Controlo ambiental nas salas limpas</b>		
Existe um controlo de contaminação	Conforme	Procedimento técnico
Tem-se em atenção ao capital e custos de operação	Conforme	-
Tem-se em atenção a conservação de energia	Conforme	
Tem-se em atenção a segurança	Conforme	
Tem-se em atenção à saúde e conforto do pessoal	Conforme	
Cumpre-se as necessidades e restrições impostas pelo equipamento e processo	Conforme	
Tem-se em atenção as questões ambientais	Conforme	
Tem-se em atenção os requisitos regulamentares	Conforme	Certificação da GMP
O controlo da temperatura tem em atenção os processos, equipamentos, materiais e condições estáveis do processo	Ação a melhorar	A temperatura na sala de lavagens de ampolas aumenta ao longo do processo
O controlo de humidade relativa tem em atenção o processo, equipamento, materiais, a redução de cargas eletrostáticas e conforto do pessoal	Ação a melhorar	A humidade relativa na sala de lavagens de ampolas aumenta ao longo do processo
Os processos que envolvem evaporação ocorrem no interior de caixas ventiladas	Ação a melhorar	Para implementar

**Tabela A.4.6 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
A iluminação deve ter cores com efeitos no conforto do pessoal e deve ter em atenção os níveis de iluminação nos processos fotossensíveis.	Ação a melhorar	Não existem vários níveis de iluminação
A conceção e o posicionamento da armação da luz e do difusor estão localizados de modo a minimizar ou eliminar a turbulência do fluxo de ar unidirecional	Conforme	-
Controlo de ar nas salas limpas		
Os sistemas de filtragem de ar (elementos de filtro, molduras, caixas de montagem, juntas) são selecionados para atender ao nível de limpeza necessário e às condições da sua utilização.	Conforme	Unidade de tratamento de ar
Existe uma pré-filtragem do ar externo para garantir a qualidade adequada de alimentação de ar para as instalações de tratamento de ar	Conforme	
Existe uma filtragem secundária para proteger os filtros finais	Conforme	
Existe uma filtragem final antes do ar entrar na sala limpa	Conforme	
Existem filtros na exaustão do ar para proteger o exterior	Conforme	
O fluxo de ar do sistema de ventilação é reduzido a níveis baixos de modo a conservar energia	Conforme	
Os sistemas de filtragem de ar (elementos de filtro, molduras, caixas de montagem, juntas) são selecionados para atender ao nível de limpeza necessário e às condições da sua utilização.	Conforme	
Operações		
Vestiário das salas limpas		
O vestiário das salas limpas protege o meio ambiente e os produtos da contaminação gerada pelo pessoal e pelas suas roupas do dia-a-dia	Conforme	Procedimento técnico
O vestuário da sala limpa é feito por tecidos e materiais resistentes à degradação, ou seja que não contaminam	Conforme	
Existe uma frequência adequada de troca de vestuário limpo de acordo com as exigências do produto e processo	Conforme	
A reutilização do vestuário é processada em intervalos regulares para eliminar a contaminação	Conforme	
Transportação e armazenamento do vestuário é realizada de forma específica para a minimizar a contaminação	Conforme	

**Tabela A.4.7 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
O vestuário (pacote limpo ou sujo) é removido para além dos limites de armazenamento da sala limpa por lavagem, reparação ou propósito de troca	Conforme	Procedimento técnico
A colocação/retiro do vestuário é realizada de modo a evitar ou minimizar a contaminação	Conforme	
O vestuário é verificado em intervalos regulares para garantir que se mantêm as características aceitáveis de controlo de contaminação	Conforme	
O vestuário tem em conta o conforto para o pessoal	Conforme	
O vestuário (pacote limpo ou sujo) é removido para além dos limites de armazenamento da sala limpa por lavagem, reparação ou propósito de troca	Conforme	
Pessoal / Operadores		
Os itens pessoais e outros não destinados ao uso da sala limpa não são permitidos dentro da sala limpa	Conforme	Formação das BPF
O pessoal é instruído em questões relacionadas com a higiene	Conforme	
Os cosméticos, joalharia e materiais semelhantes não são permitidos dentro das salas limpas	Conforme	
O pessoal tem formação para se poder movimentar de uma maneira a minimizar a geração de contaminação	Conforme	
Equipamento estacionário		
Todos os equipamentos são cuidadosamente limpos e descontaminados antes de serem transportados para a sala limpa	Conforme	Procedimento técnico e Instruções de Fabrico
Existe um procedimento relativo à entrada do equipamento em ambientes controlados	Conforme	
A instalação do equipamento é planeada e realizada de forma a minimizar o impacto na sala de ambiente controlado	Conforme	
Os procedimentos de manutenção, reparação e calibração de equipamentos são desenvolvidos de modo a controlar e minimizar a contaminação	Conforme	
Materiais e equipamentos portáteis e móveis		
Todos os materiais e equipamentos têm um nível de limpeza apropriado	Conforme	Procedimento técnico
Existem procedimentos de forma a garantir que os materiais e equipamentos portáteis e móveis que entram na sala não estão contaminados	Conforme	

**Tabela A.4.8 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
Todos os materiais usados e resíduos são recebidos, identificados e removidos de acordo com os procedimentos definidos.	Conforme	Procedimento técnico
Limpeza da sala de ambiente controlado		
O método e procedimentos de limpeza são específicos e rotineiros de forma a manter as superfícies com níveis de limpeza aceitáveis	Conforme	Plano Mestre de Validação e Procedimento técnico
O pessoal responsável pelas operações de limpeza receberam formação para cumprir as suas tarefas	Conforme	Empresa Subcontratada
Existe uma verificação rotineira para garantir os níveis específicos na sala limpa	Conforme	Procedimento técnico
Sistemas Operacionais		
Existem métodos para avaliação de risco: HACCP, FMEA, FTA	Conforme	No Media Fill
Existe uma determinação de riscos operacionais: concentração da contaminação ou fator de risco e distância do risco ao produto e importância do método usado para proteger o produto	Conforme	
Dispositivos de separação (exaustores de ar limpo, caixas com luvas, isoladores)		
Design e construção		
Existe a qualificação e cumprimento dos requisitos regulamentares	Não aplicável	Não existem isoladores
O design apresenta uma proteção da contaminação apropriada para a operação que está a ser executada	Não aplicável	
Os dispositivos de separação são ergonomicamente desenhados para facilitar o acesso a todas as superfícies internas e áreas de trabalho.	Não aplicável	
As influências externas (fluxo de ar, vibração e pressão diferencial) são consideradas para evitar os efeitos adversos na integridade	Não aplicável	
Critérios de design incluem a possível eliminação do dispositivo por limpeza ou descontaminação	Não aplicável	
A construção de instalações possui alarmes	Não aplicável	
Dispositivos de acesso		
Existem dispositivos para operação manual (luvas, sistemas de luvas, half-suits e manipulador remoto)	Não aplicável	-

**Tabela A.4.9 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

<b>Requisitos</b>	<b>Conformidade</b>	<b>Justificação</b>
O dispositivo de acesso foi construído para permitir a troca de luvas sem violar o dispositivo de separação	Não aplicável	-
<b>Classificação de contaminação molecular aerotransportado</b>		
Estabeleceram-se parâmetros ou seja determinar se o produto ou processo é afetado pela contaminação molecular, as categorias, concentrações máximas e fontes de contaminantes.	Conforme	-
<b>ISO 14698</b>		
<b><u>Métodos e princípios gerais</u></b>		
Identificação de potenciais perigos para o processo ou produto	Conforme	Procedimento técnico e validação do processo
Designação das zonas de risco e a determinação dos pontos, procedimentos operacionais e condições ambientais	Conforme	
Estabeleceu-se limites para garantir o controlo	Conforme	
Estabeleceu-se um calendário de monitorização e observação	Conforme	Autoinspeção
Estabeleceu-se ações corretivas e procedimentos	Conforme	Procedimento técnico
Estabeleceu-se procedimentos de formação	Conforme	Procedimento técnico e validação do processo
<b>Constituição de um sistema formal</b>		
Desenvolveu-se, implantou-se, implementou-se e documentou-se o sistema formal de controlo de bio contaminação	Conforme	Procedimento técnico
O sistema de gestão de qualidade incluir um programa de formação adequado	Conforme	
A implementação do programa de controlo permite minimizar as atividades de amostragem que contribuem para a contaminação	Conforme	
A classificação das zonas de risco foram realizadas de acordo com as diretrizes, regulamentos relevantes e sistema formal escolhido	Conforme	Trade Labor
<b>Monitorização de bio contaminação</b>		
A deteção e monitorização é realizada por amostragem e enumeração de unidades viáveis com métodos apropriados e de acordo com o plano de amostragem	Conforme	Procedimento técnico

**Tabela A.4.10 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
A monitorização em zonas de risco é realizada quando a instalação estiver em construção ou em repouso.	Conforme	Procedimento técnico
A monitorização é realizada rotineiramente no estado operacional de acordo com o sistema formal selecionado	Conforme	
A amostragem é efetuada com a utilização de um dispositivo e o método selecionado de acordo com o procedimento escrito	Conforme	
O plano de amostragem contém o plano de amostragem inicial para fornecer um ponto de referência ou linha de base a partir da implementação do sistema formal escolhido	Conforme	
Processamento de amostras		
As condições e duração do transporte/armazenagem de agentes de neutralização e de solutos osmóticos são adequadas	Não aplicável	-
Cultura de amostras		
O meio de cultura (não seletivo) e as condições de incubação são selecionados de acordo com os tipos de microrganismos esperados.	Conforme	Procedimento técnico
Dispositivos de amostragem		
Os dispositivos de amostragem passivo ( <i>settle plates</i> ) ou dispositivo de amostragem ativo (amostras de impacto, choque, filtração) são os adequados	Conforme	Procedimento técnico
Utilização da eficiência física (capacidade de recolher amostras de partículas de vários tamanhos, sendo uma partícula que transporta um microrganismo ou uma partícula inanimada) ou eficiência biológica (partículas portadores de micróbios, e é menor que a eficiência física)	Ação a melhorar	O aparelho de recolha de partículas viáveis não está em funcionamento na sala de preparação
Avaliação e interpretação dos dados da bio contaminação		
Tem-se em conta os seguintes fatores: tipos de resultados a ser recolhidos, informação necessária, métodos de processar os resultados, agrupamento de resultados para concentrar as tendências e desvios importantes, método e unidades em que os resultados são expressos, análise de tendências, controlo de gráficos, estimação, interpretação e comunicação dos resultados	Conforme	Procedimento técnico
A ação corretiva inclui o método padrão para destacar os resultados anormais, eliminação de erros grosseiros ou sistemáticos, avaliação da mudança, eficiência de recuperação do método, verificação do equipamento, justificação e documentação.	Conforme	



**Tabela A.4.11 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
Para estimação e avaliação da bio contaminação recolher-se os resultados e grava-se dos dados (dados não tratados, lista de informação, identificação e localização de documentos, procedimentos, requisitos específicos, legais e regulamentares e requisitos com efeitos sobre os níveis de ação, alerta e alvo.)	Conforme	Procedimento técnico
<b>ISO 13408</b>		
<b><u>Processamento asséptico</u></b>		
Existe uma divisão em várias unidades operacionais (filtração com esterilização, montagem de componentes, manipulação e armazenagem de produtos esterilizados)	Conforme	<i>Layout</i>
Efetua-se a gestão de riscos microbiológicos: identificação, avaliação, monitorização e deteção e prevenção da contaminação	Conforme	Procedimento técnico
<b>Ambiente de produção</b>		
Tem-se em atenção ao <i>Layout, design</i> , HVAC, monitorização de parâmetros, entrada e saída de utilidades, entrada e saída de materiais, componentes, produtos e resíduos, procedimentos de limpeza e de desinfeção, disposições e procedimentos práticos do vestiário, acesso ao serviço e manutenção, comportamento e atividades do pessoal na APA, provisões e medidas corretivas, fluxo de pessoas e controlo de pragas	Conforme	Procedimento técnico
<b><i>Layout</i> da área de processo assético (APA)</b>		
Existe uma zona de apoio direto (transporte e preparação dos materiais de embalagem para introduzir na zona de processamento crítica, remover o produto acabado e preparação dos operadores intervenientes)	Conforme	<i>Layout</i>
Existe uma zona de apoio indireto (preparação de soluções de produto para ser filtrada, montagem de equipamento de limpeza a ser esterilizado e limpeza de equipamento)	Conforme	<i>Layout</i>
<b>Introdução de materiais e componentes à área de processamento asséptico</b>		
O acesso e transferência de materiais, componentes e equipamentos dentro ou fora das câmaras intermédias são controlados	Ação a melhorar	A <i>pass box</i> tem um puxador avariado que não permite que se ligue a luz UV
Os Transportadores contíguos não circulam em diferentes zonas de classificação	Conforme	-
Os materiais que entram na zona de processamento crítico são esterilizados ou bio descontaminados	Conforme	-

**Tabela A.4.12 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
A carga microbiana de matérias-primas, produtos intermediários e outros componentes são esterilizadas e introduzidas na área de processamento asséptico baseado na avaliação de risco	Conforme	-
O composto de soluções e suspensões a granel é controlado de modo a prevenir o aumento de potenciais microrganismos e endotoxinas que pode ocorrer até ao momento em que as soluções são esterilizadas por filtração	Conforme	
Sistema HVAC		
As salas limpas são ventiladas e separadas de acordo com as condições de especificação	Conforme	
O ar que entra na sala limpa passa através de um filtro HEPA para atingir o grau de limpeza especificado	Conforme	
O ar filtrado (HEPA) mantém a pressão positiva em relação às áreas vizinhas de menor classificação	Conforme	Relatório da Trade Labor
O fluxo de ar unidirecional tem uma velocidade suficiente para promover uma proteção adequada	Conforme	
O número de mudanças por hora e a diferença de pressão são definidas	Conforme	
Tem-se em atenção à minimização da distribuição de fluxo de ar unidirecional por causa das turbulências	Conforme	
Temperatura e humidade relativa		
Valores dentro do intervalo confortável para as pessoas que trabalham na sala e compatíveis com as propriedades do produto fabricado	Conforme	-
Filtros HEPA		
Os filtros são usados para manter as condições ambientais e são avaliados por teste de aerossóis	Conforme	Relatório da Trade Labor
O filtro tem um certificado do fornecedor que indica que possui uma eficiência de pelo menos 99,97% para a retenção de 0,3 µm ou de partículas maiores	Conforme	
A integridade do filtro na zona crítica de processamento e de apoio direto é confirmada/verificada	Conforme	
Se ocorrer uma falha no filtro, há uma investigação documentada de forma a identificar a potencial causa da falha e de implementação da ação corretiva	Conforme	
Serviços de utilidades e equipamento auxiliar		
Os serviços de utilidades são designados, localizados e instalados de forma a não contaminar outros serviços	Conforme	-

**Tabela A.4.13 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
É efetuada uma avaliação da produção, armazenagem e sistemas de distribuição do processo de utilidades (água purificada, PPI, ar comprimido, vapor limpo, <i>clean-in-place</i> )	Conforme	Site Master File
A água e água residual está contida num sistema fechado para prevenir a contaminação	Conforme	Empresa VEOLIA
Todos os gases comprimidos que entrem nas instalações assépticas são secos e livres de óleos. E aqueles que entram em contato direto com os produtos esterilizados, recipientes ou superfícies críticas têm que passar por filtros esterilizados.	Conforme	-
A limpeza a vácuo dos equipamentos é equipada com um filtros de descarga da mesma eficiência que o filtro usado para ventilar a área. A fonte de vácuo fica é projetada de modo a prevenir o refluxo.	Não aplicável	
<b>Programas de monitorização de pessoas e ambiente</b>		
A APA monitoriza as partículas viáveis de acordo com a definição, programa documentado que inclui um plano de ação corretiva com níveis de ação específicos quando são excedidos	Conforme	
O plano de amostragem documentado descreve o local, a frequência, as condições, os métodos de monitorização, o tempo e a duração da amostra e os níveis de ação e alerta	Conforme	
A frequência da monitorização de diferentes áreas é específica.	Conforme	
Efetua-se uma amostragem para a monitorização de partículas (áreas e equipamentos nas instalações de processamento asséptico onde a qualidade do produto ou a exatidão do teste podem ser afetadas pelas partículas.)	Conforme	Procedimento técnico
Efetua-se uma monitorização do pessoal (pessoas formadas e qualificadas são sujeitas ao programa de monitorização microbiológica de rotina)	Conforme	
A APA monitoriza frequentemente a presença de microrganismos pelo uso de métodos de amostras quantitativas de ar.	Conforme	
Os níveis de alerta e ação são desenvolvidos para todos os locais de amostragem na APA. Por zona de processamento crítico, cada microrganismo detetado é investigado. Os níveis de alerta e níveis de ação são examinados por intervalos regulares definidos.	Conforme	

**Tabela A.4.14 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
<b>Equipamento</b>		
Deve-se ter em conta a qualidade de acabamento da superfície, especificações para a capacidade de ser limpo e esterilizado, fácil montagem, arranjo adequado da tubagem e cabos, dispositivos de escape com filtros de modo a ter o mesmo grau de qualidade de ar que a área onde descarga	Conforme	-
<b>Qualificação do projeto</b>		
O equipamento é projetado para uso de áreas específicas limpas e possui os requisitos de segurança e funcionais relevantes para o seu uso destinado.	Não aplicável	-
<b>Qualificação da instalação</b>		
É realizada de acordo com os procedimentos, tendo em atenção as referências cruzadas apropriadas para o equipamento e especificações de instalação. As instruções de operação são avaliadas e o sistema de controlo informático e o respetivo <i>software</i> são qualificados antes ou em simultâneo com a qualificação do equipamento.	Conforme	<i>Layout</i>
<b>Qualificação operacional</b>		
Efetua-se a demonstração de que a instalação do equipamento é capaz de realizar um processo específico com os limites de operação definidos	Conforme	Documentação
<b>Constituição de um sistema formal</b>		
Efetua-se a estabilização dos requisitos, ou seja, inclui a demonstração de funcionamento do equipamento para se obter consistentemente um produto estéril	Conforme	Documentação
<b>Manutenção de equipamento</b>		
Existe um programa de manutenção preventiva, tais como utilidades, serviços e equipamentos e inclui a calibração de instrumentos.	Ação a melhorar	Devia haver mais peças em armazém e um programa preventivo
A manutenção não planeada quando se simula o processo e este não for qualificado, então o processo tem que parar e nenhuma unidade pode ser removida	Conforme	Protocolo
<b>Pessoas / Operários</b>		
As pessoas têm uma formação para a qualificação APA	Conforme	Procedimento técnico
<b>Fabrico do produto</b>		
Os materiais usados na produção parenteral são livres de endotoxinas e obedecem ao teste de limites de endotoxinas definidos e justificados pelo produtor.	Ação a melhorar	Qualificação do túnel de despirogenização

**Tabela A.4.15 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
Efetua-se a avaliação dos dados para demonstrar o conhecimento das quantidades de endotoxinas antes do tratamento no processo de despirogenização.	Ação a melhorar	Qualificação do túnel de despirogenização
Na técnica asséptica, os materiais usados são esterilizados pelos métodos de validação de esterilização apropriados.	Conforme	Procedimento técnico
<b>Duração do processo de fabrico</b>		
O tempo total de cada operação é o mínimo e limitado ao máximo.	Conforme	Instruções de fabrico e validação do processo
<b>Limpeza e desinfeção das instalações</b>		
Os agentes de limpeza e desinfeção são compatíveis	Conforme	Especificações técnicas
A remoção dos resíduos de agentes de limpeza e desinfeção é validada	Conforme	Procedimento técnico
O plano de limpeza documentado contém a aprovação de agentes de limpeza, a diluição, o tempo de armazenamento e os métodos de esterilização, os procedimentos de limpeza, o uso de auxiliares, a manutenção, esterilização e armazenamento, o tempo e a frequência de limpeza.	Conforme	
O plano de desinfeção documentado tem a aprovação dos agentes para a desinfeção, a sua diluição, condições e tempo de armazenamento, métodos de esterilização; procedimentos para a desinfeção, aplicações da desinfeção, tempo e duração requeridos e precauções de segurança; uso de auxiliares de desinfeção, a sua manutenção, esterilização e armazenamento; Limpeza pós-desinfeção, responsabilidades.	Conforme	
O procedimento de limpeza de equipamento para superfícies críticas é estabilizado, validado e documentado e deve garantir a remoção de resíduos.	Conforme	
A desinfeção de equipamento segue os procedimentos, aplicações, tempo de contato, limpeza pós-desinfeção, precauções, agentes de desinfeção aprovados, tempo e condições de armazenamento.	Conforme	
Para a esterilização de superfícies críticas, os procedimentos são detalhados ao nível de desmontagem, pré-tratamento, esterilização e montagem, tipo de processo e condições de esterilização, medidas de controlo para garantir as especificações do processo, tempo e condições de armazenamento, procedimentos e frequência de medidas de revalidação	Conforme	

**Tabela A.4.16 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
Para a esterilização de superfícies críticas, os procedimentos são detalhados ao nível de desmontagem, pré-tratamento, esterilização e montagem, tipo de processo e condições de esterilização, medidas de controlo para garantir as especificações do processo, tempo e condições de armazenamento, procedimentos e frequência de medidas de revalidação	Conforme	
Para a esterilização de superfícies críticas, os procedimentos são detalhados ao nível de desmontagem, pré-tratamento, esterilização e montagem, tipo de processo e condições de esterilização, medidas de controlo para garantir as especificações do processo, tempo e condições de armazenamento, procedimentos e frequência de medidas de revalidação	Conforme	Procedimento técnico
Para a esterilização de superfícies críticas, os procedimentos são detalhados ao nível de desmontagem, pré-tratamento, esterilização e montagem, tipo de processo e condições de esterilização, medidas de controlo para garantir as especificações do processo, tempo e condições de armazenamento, procedimentos e frequência de medidas de revalidação	Conforme	
<b>Media Fill</b>		
É utilizado um meio de crescimento microbiológico em vez do produto principal para garantir que o processo asséptico está a funcionar corretamente	Conforme	
O meio de crescimento microbiológico selecionado é capaz de fazer crescer o grupo de referência de microrganismos e de suportar a recuperação microbiológica de baixo número de microrganismos	Conforme	
A verificação do meio é efetuada através a incubação de unidades de enchimentos com um número apropriado de unidades	Conforme	
A inoculação do crescimento é menor que 100 UFC/unidade de enchimento	Conforme	Procedimento técnico - <i>Media Fill</i>
A simulação inclui o tempo de espera máximo permitido e intervenções representantes do processo de rotina na frequência máxima admitida/número de unidades de enchimento	Conforme	
Os recipientes <i>Media Fill</i> são agitados, rodados ou invertidos antes da incubação para garantir o contato do meio com o interior das superfícies do recipiente	Conforme	
As unidades com vazamento, partidas ou estragadas são registadas e removidas	Conforme	

**Tabela A.4.17 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

Requisitos	Conformidade	Justificação
Para a avaliação das unidades <i>Media Fill</i> , as unidades são incubadas pelo menos 14 dias, entre 20 a 35°C.	Conforme	Procedimento técnico - <i>Media Fill</i>
No critério de aceitação, o objetivo é alcançar zero unidades contaminadas e qualquer unidade contaminada é investigada para determinar a causa da contaminação	Conforme	
<b><u>Processo de filtração</u></b>		
Tem-se atenção ao tempo de espera e efeitos na carga microbiana na pré-filtração do fluido, filtro condicionado, tempo de filtração/tempo total que o filtro teve em contato com o fluido, número máximo de repetições de filtração, caudal, volume de filtração, temperatura e diferença de pressão.	Conforme	Instrução de fabrico
<b><i>Bacterial challenge test</i></b>		
A filtração do fluido estéril é válida durante a qualificação do processo inicial por um teste de desafio bacteriano usando um filtro a partir de 3 lotes com três resultados positivos consecutivos. As falhas são investigadas.	Conforme	Procedimento técnico
Para fluxos específicos, as membranas do mesmo tipo que as usadas na produção são obtidas através da fabricação do filtro e encontraram-se dentro do limite de aceitação do teste de integridade do filtro (cerca de 10% desse limite).	Conforme	
Para simular o <i>worst case</i> de produção tem-se em conta o pH, viscosidade, força iónica, osmose, concentração de ingredientes ativos, tensão de superfície, efeito do fluido nos organismos, característica do processo de carga microbiana, tempo de filtração, volume de filtração/unidade de área do filtro, pressão diferencial, taxa de fluxo, temperatura e condições de esterilização.	Conforme	
<b><i>Challenge fluid and challenge microorganisms</i></b>		
Nas simulações são consideradas as modificações do fluido a ser filtrado (reduzir ou eliminar os compostos antimicrobianos), a redução do tempo de exposição do fluido ao organismos e a redução da temperatura do fluido.	Conforme	Procedimento técnico
<b><i>Design do sistema de filtração</i></b>		
Efetua-se uma documentada e justificada seleção dos componentes do sistema de filtração	Conforme	Procedimento técnico
O sistema de filtração é projetado de modo a minimizar o número de conexões assépticas	Conforme	
O filtro de esterilização é implementado o mais próximo possível do ponto de enchimento	Conforme	

**Tabela A.4.18 - Continuação da *Check list* do setor de injetáveis (auditoria interna).**

<b>Requisitos</b>	<b>Conformidade</b>	<b>Justificação</b>
O sistema de filtração é projetado de modo a permitir os procedimentos de limpeza e esterilização (nível de garantia de esterilização (SAL) não ser menor que $10^{-6}$ )	Conforme	Procedimento técnico
É determinada uma pré-esterilização da carga biológica para cada lote	Conforme	
O processo é documentado e existem formações aos operadores	Conforme	



## A.5 Análise de Risco de Pontos de Amostragem

**Tabela A.5.1 - Tabela com os fatores de risco utilizados na análise de risco de pontos de amostragem.**

Equipamento / Área	Classificação de salas	Fator A	Fator B	Fator C	Fator D	Risco	Índice de criticidade
Fluxo laminar da sala de filtração	Classe A	0,5	2	2	2	4	2
Fluxo laminar da Máquina de enchimento	Classe A	0,5	2	2	2	4	2
SAS de saída do vestiário	Classe C	1,5	1	1,5	1	2	1,5
Corredor interno da secção de Injetáveis (Antecâmara)	Classe C	1,5	1	1,5	1	2	1,5
Sala de preparação	Classe C	1,5	1	1,5	1	2	1,5
Sala de lavagem	Classe C	1,5	1	1,5	1	2	1,5
Sala de filtração	Classe B	1	1,5	1,5	1,5	3	1,5
Sala de enchimento	Classe B	1	1,5	1,5	1,5	3	1,5
SAS de acesso ao vestiário	Classe C	1,5	1	1,5	1	2	1,5
Vestiário	Classe C	1,5	1	1,5	1	2	1,5
Sala de transferência de ampolas	Classe C	1,5	1	1,5	1	2	1,5
Sala de verificação de ampolas	Classe D	2	0,5	1	0,5	1	1,5
SAS de acesso à secção de injetáveis	Classe D	2	0,5	1	0,5	1	1,5
Sala de lavagem de ampolas	Classe C	1,5	1	1,5	1	2	1,5
SAS armazém de ampolas / sala de lavagem de ampolas	Classe D	2	0,5	1	0,5	1	1,5
Receção / Armazém de ampolas	Classe D	2	0,5	1	0,5	1	1,5
SAS Receção / Armazém de ampolas	Classe D	2	0,5	1	0,5	1	1,5



## A.6 Cartas de Controle

### Sala de Preparação – Pressão (Pa)

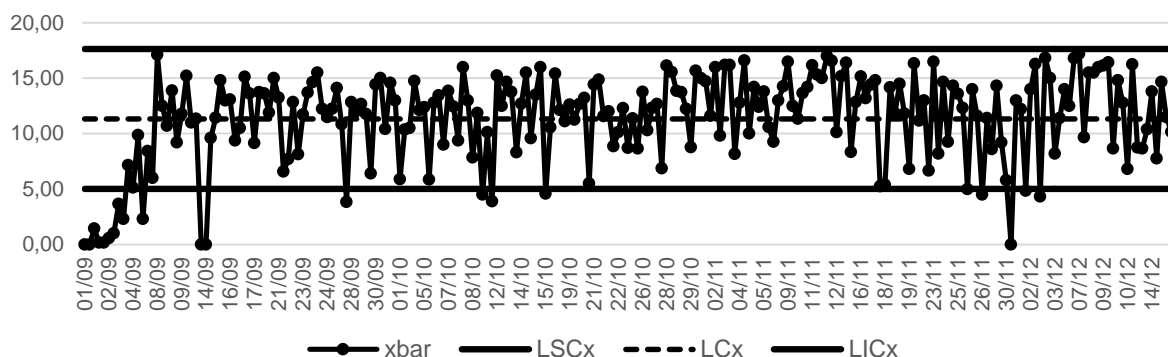


Figura A.6.1 - Carta de controle inicial da média de pressão na sala de preparação.

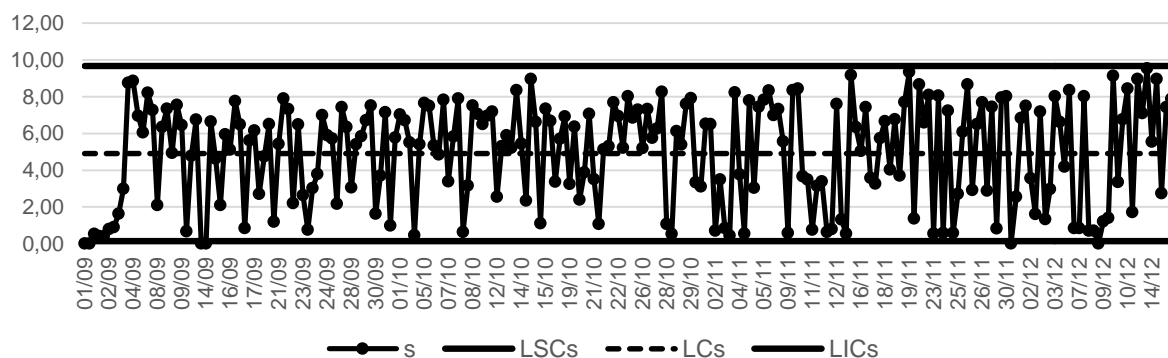


Figura A.6.2 - Carta de controle inicial do desvio padrão de pressão na sala de preparação.

### Sala de Preparação - Humidade Relativa (%)

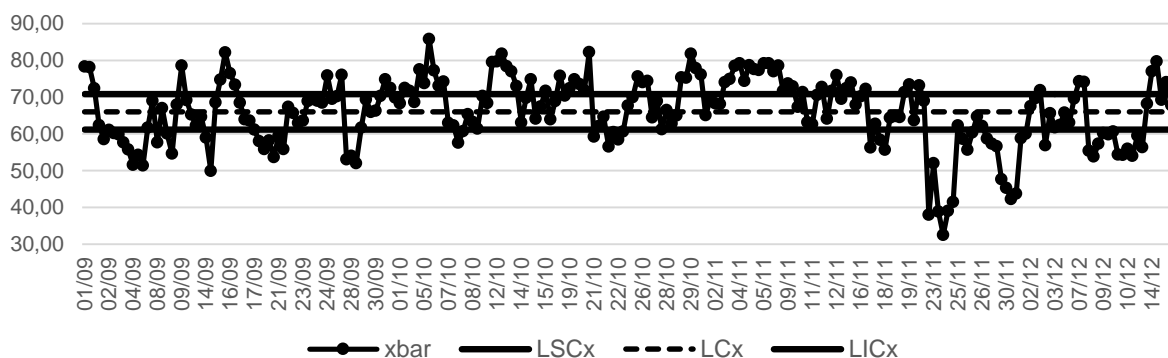


Figura A.6.3 - Carta de controle inicial da média de humidade relativa na sala de preparação.

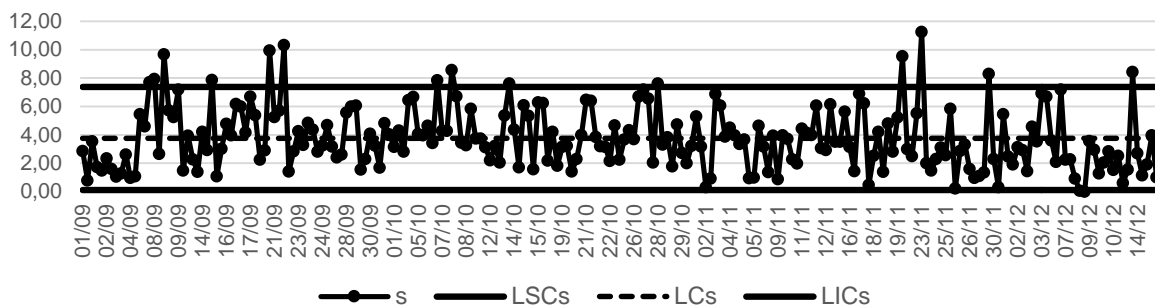


Figura A.6.4 - Carta de controlo inicial do desvio padrão de humidade relativa na sala de preparação.

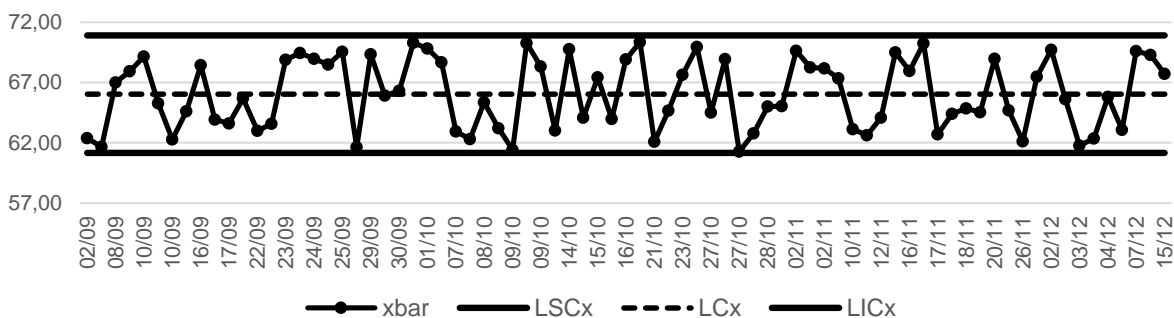


Figura A.6.5 - Carta de controlo final da média de humidade relativa na sala de preparação.

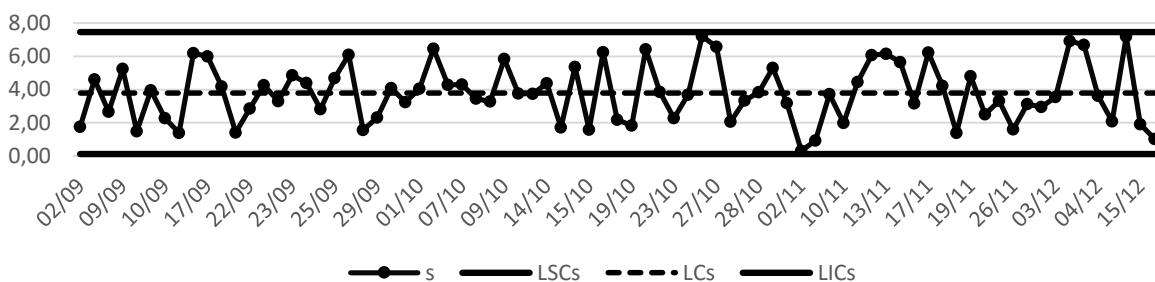


Figura A.6.6 - Carta de controlo final do desvio padrão de humidade relativa na sala de preparação.

### Sala de Preparação - Temperatura (°C)

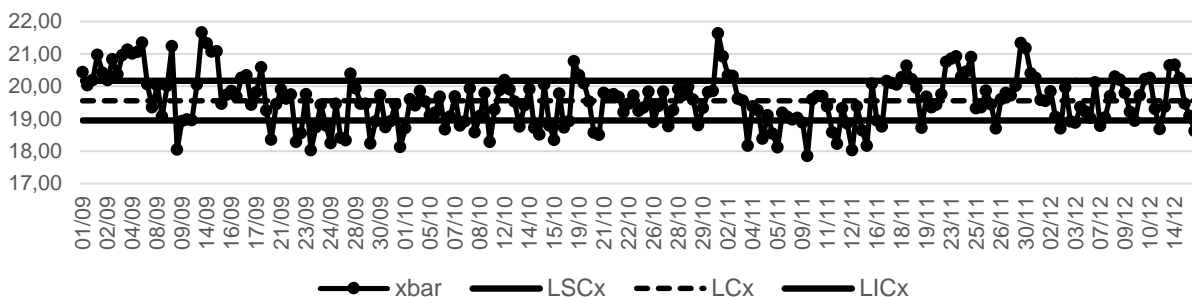


Figura A.6.7 - Carta de controlo inicial da média de temperatura na sala de preparação.

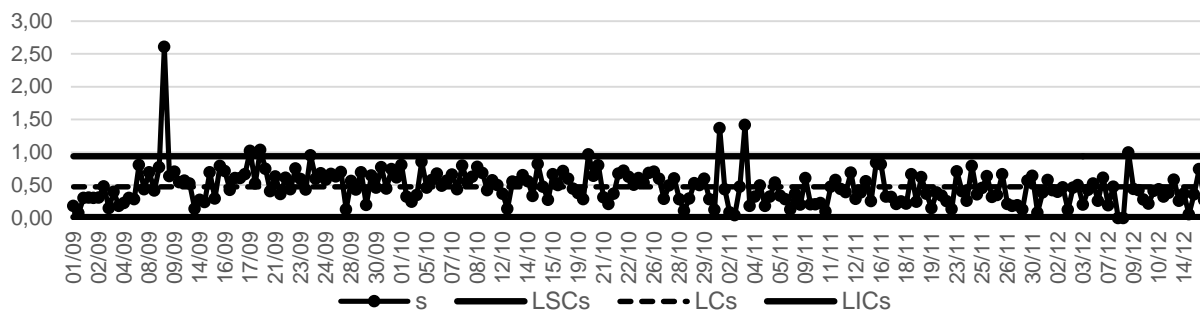


Figura A.6.8 - Carta de controle inicial do desvio padrão de temperatura na sala de preparação.

### Sala de Filtração – Pressão (Pa)

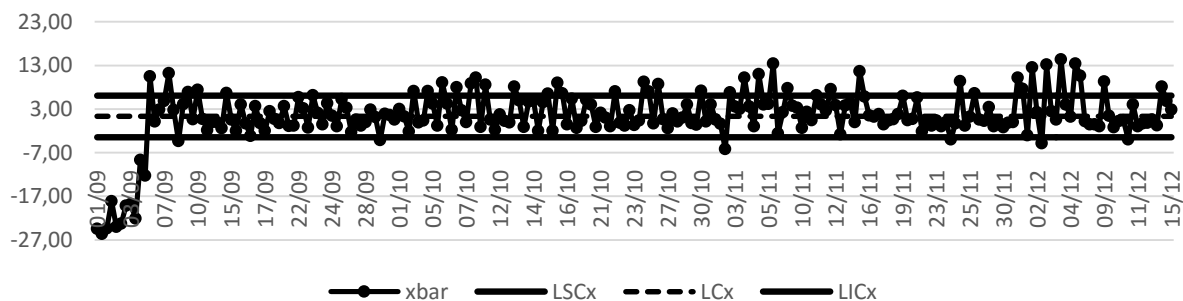


Figura A.6.9 - Carta de controle inicial da média de pressão na sala de filtração.

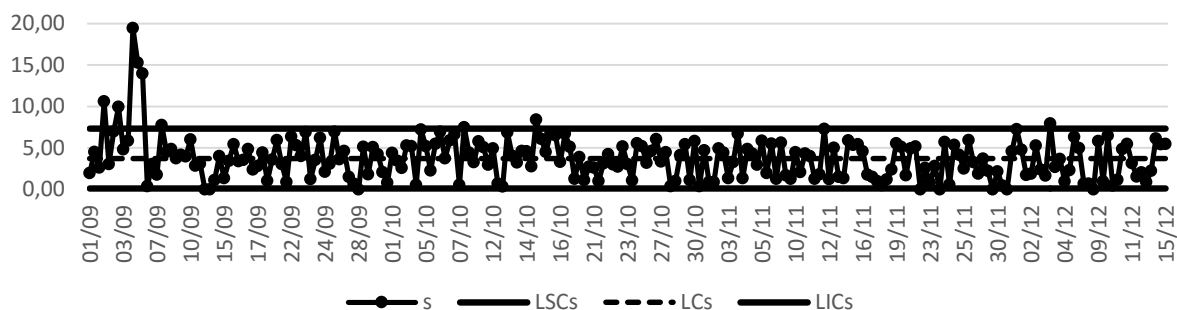


Figura A.6.10 - Carta de controle inicial do desvio padrão de pressão na sala de filtração.

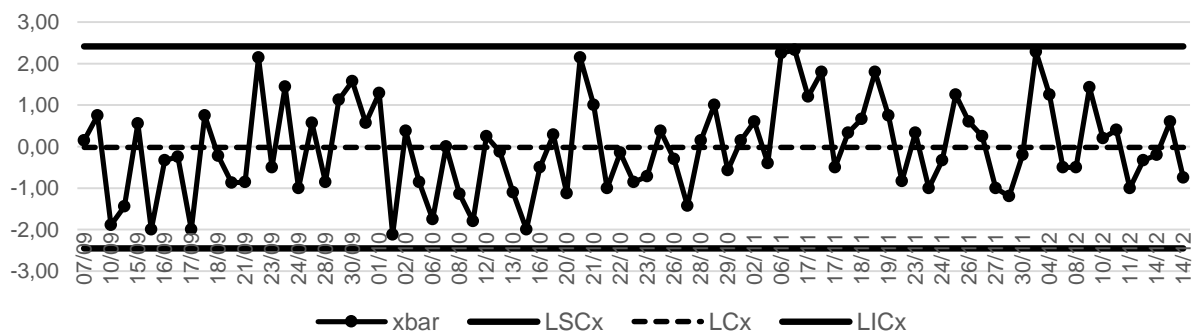


Figura A.6.11 - Carta de controle final da média de pressão na sala de filtração.

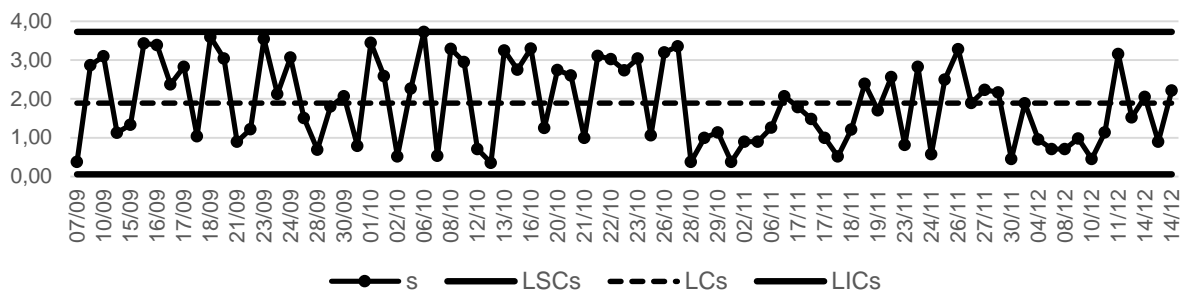


Figura A.6.12 - Carta de controle final do desvio padrão de pressão na sala de filtração.

### Sala de Filtração - Humidade Relativa (%)

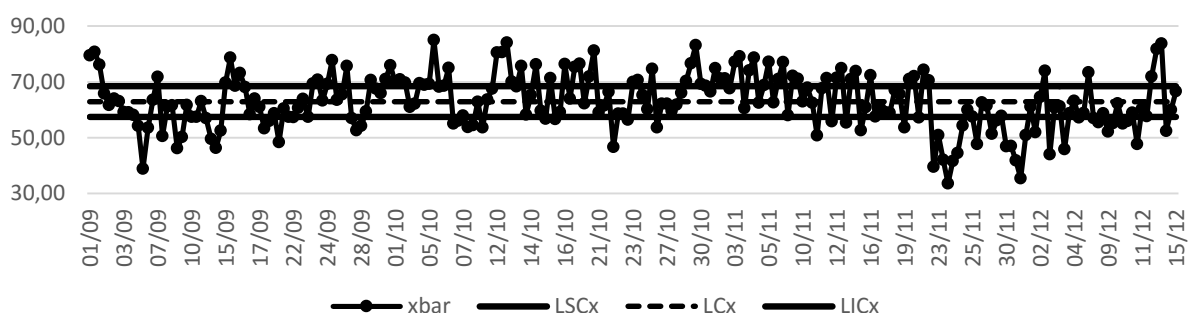


Figura A.6.13 - Carta de controle inicial da média de humidade relativa na sala de filtração.

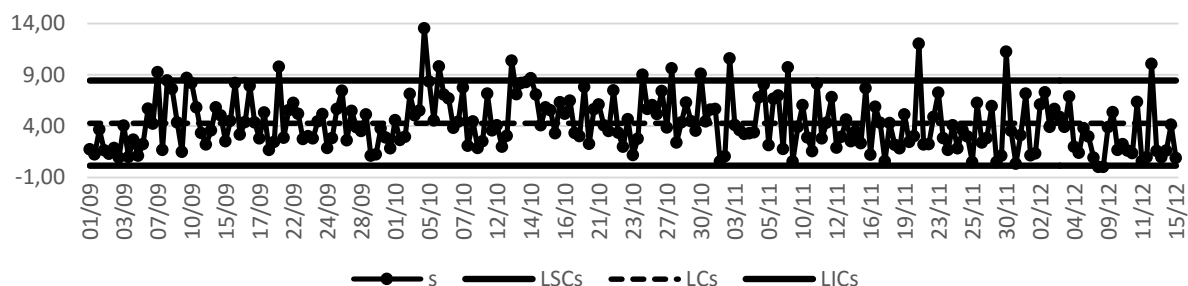


Figura A.6.14 - Carta de controle inicial do desvio padrão de humidade relativa na sala de filtração.

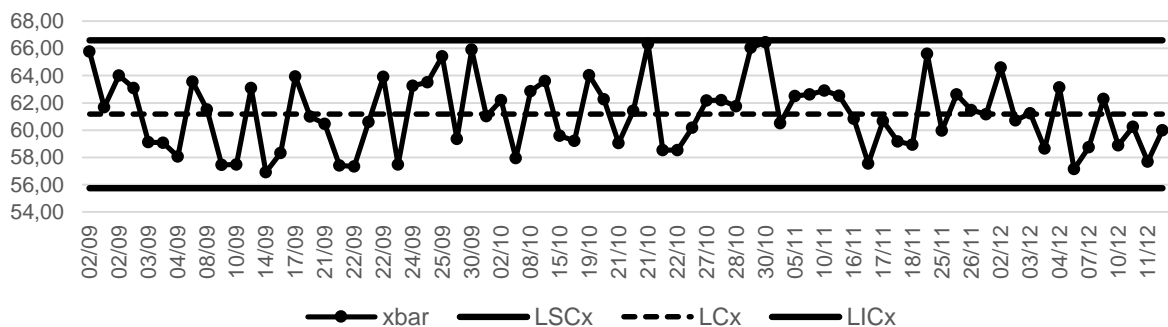


Figura A.6.15 - Carta de controle final da média de humidade relativa na sala de filtração.

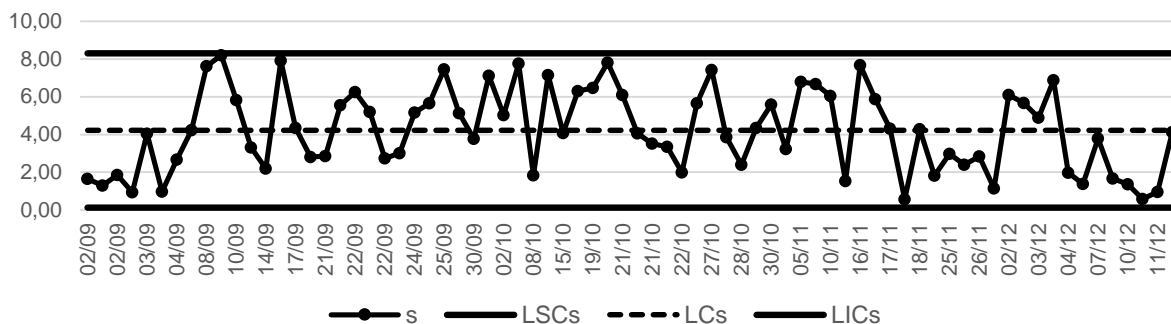


Figura A.6.16 - Carta de controlo final do desvio padrão de humidade relativa na sala de filtração.

### Sala de Filtração - Temperatura (°C)

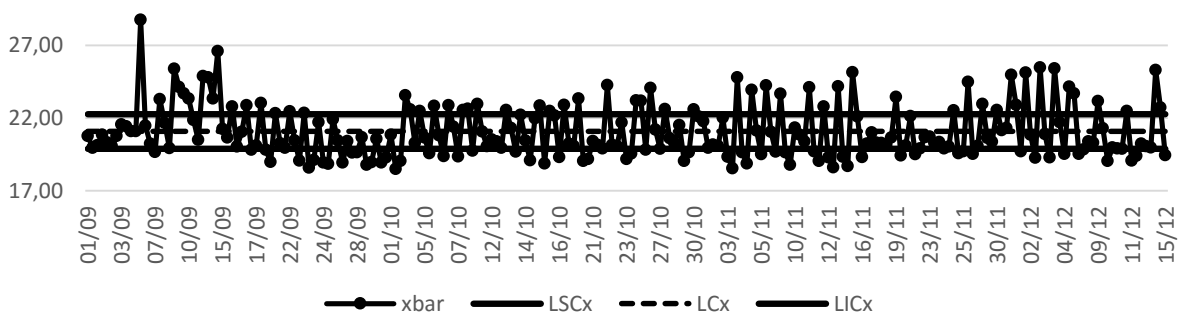


Figura A.6.17 - Carta de controlo inicial da média de temperatura na sala de filtração.

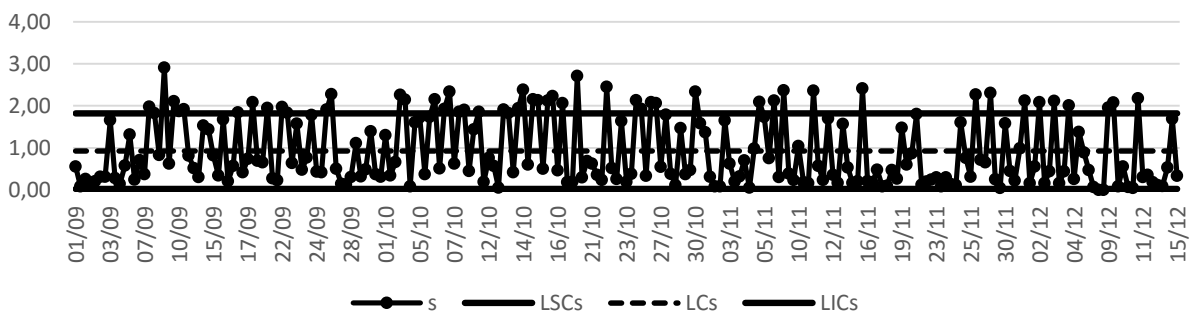


Figura A.6.18 - Carta de controlo inicial do desvio padrão de temperatura na sala de filtração.

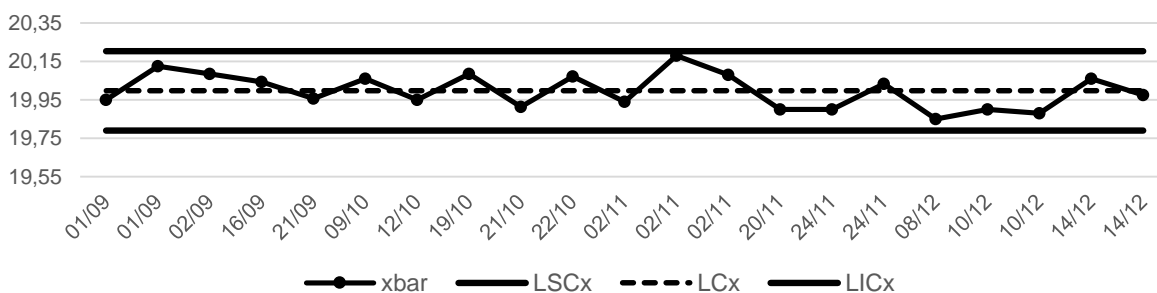


Figura A.6.19 - Carta de controlo final da média de temperatura na sala de filtração.

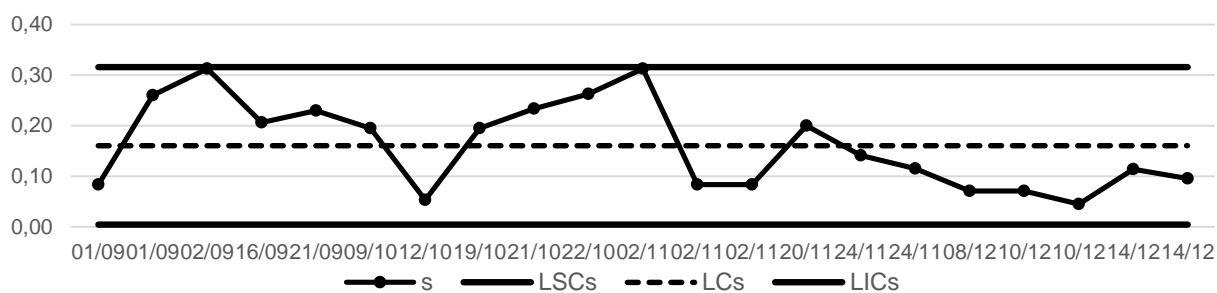


Figura A.6.20 - Carta de controle final do desvio padrão de temperatura na sala de filtração.

### Sala de Enchimento – Pressão (Pa)

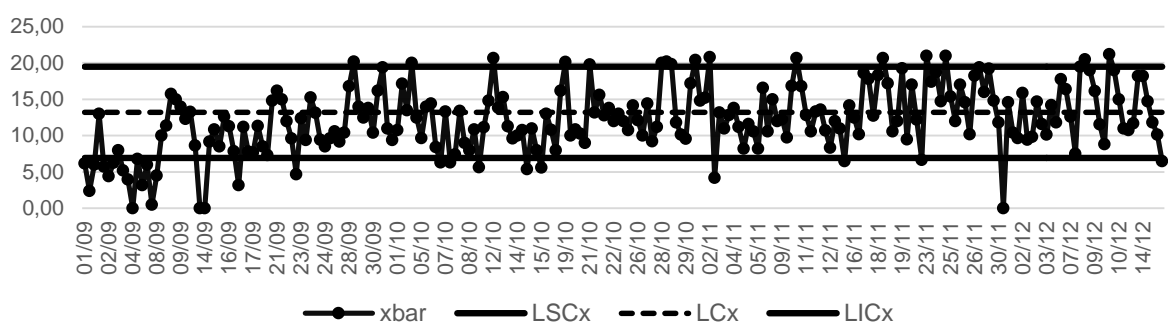


Figura A.6.21 - Carta de controle inicial da média de pressão na sala de enchimento.

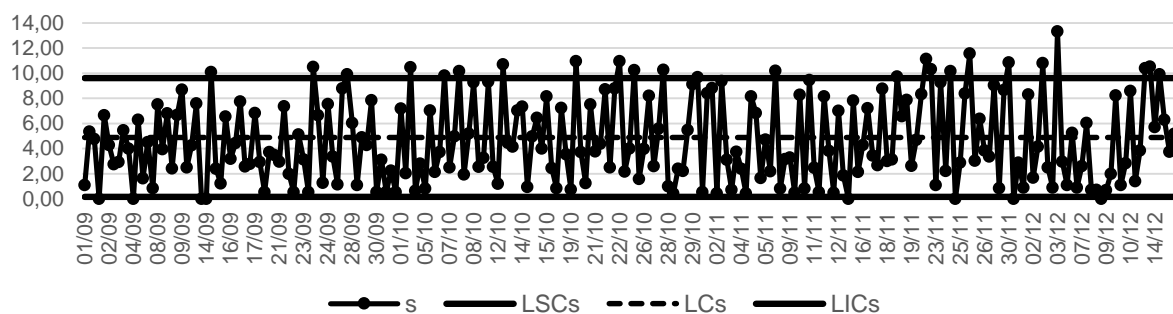


Figura A.6.22 - Carta de controle inicial do desvio padrão de pressão na sala de enchimento.

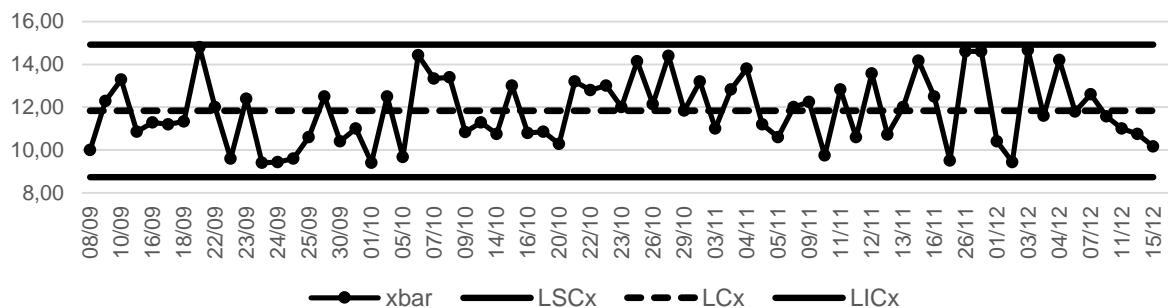


Figura A.6.23 - Carta de controle final da média de pressão na sala de enchimento.



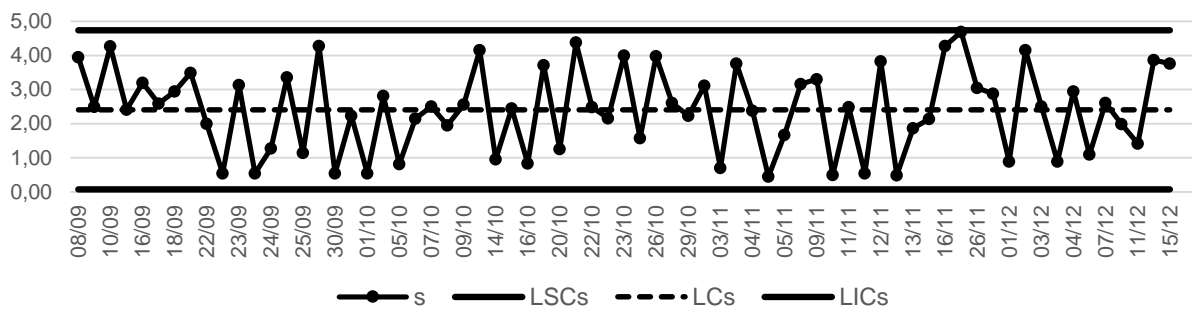


Figura A.6.24 - Carta de controle final do desvio padrão de pressão na sala de enchimento.

### Sala de Enchimento - Humidade Relativa (%)

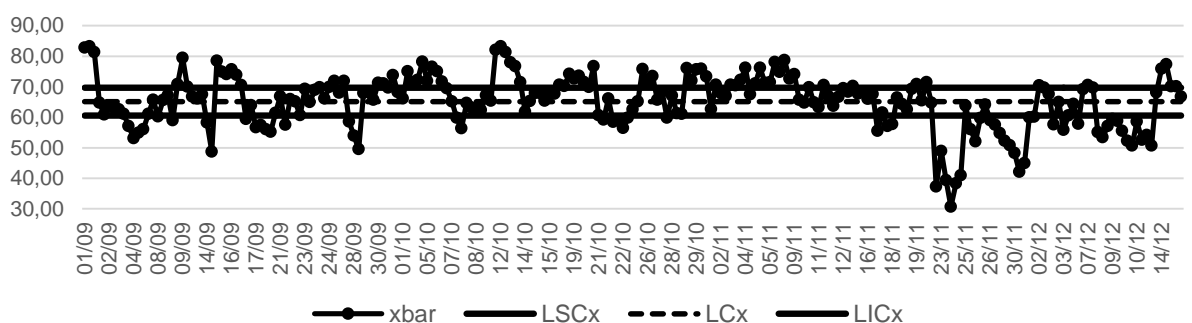


Figura A.6.25 - Carta de controle inicial da média de humidade relativa na sala de enchimento.

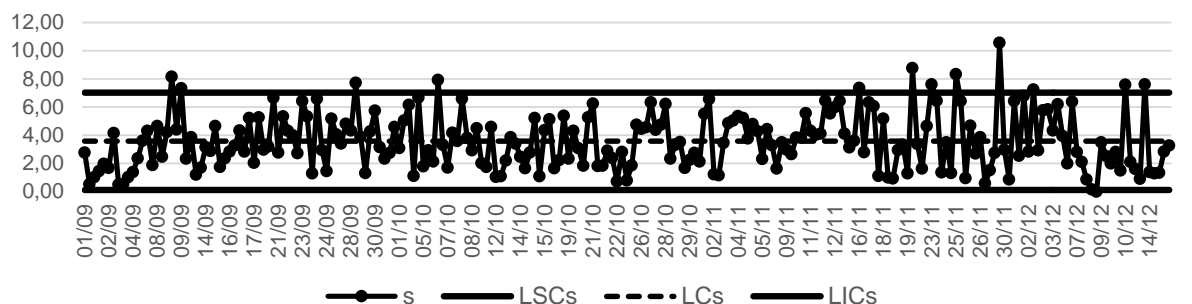


Figura A.6.26 - Carta de controle inicial do desvio padrão de humidade relativa na sala de enchimento.

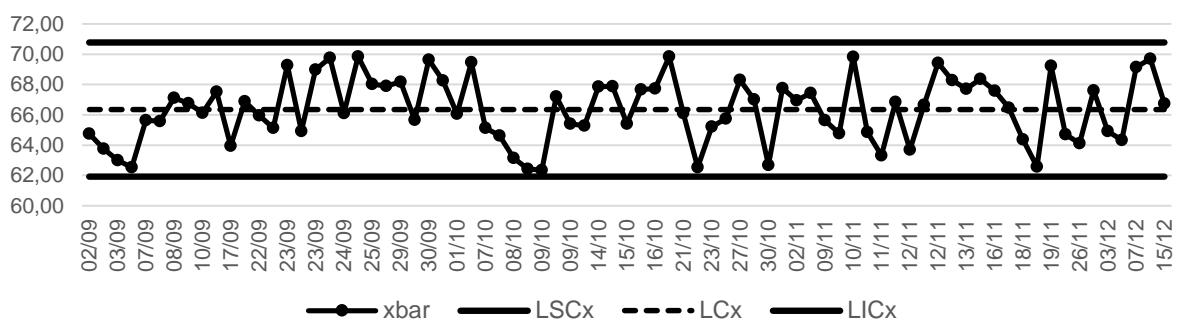
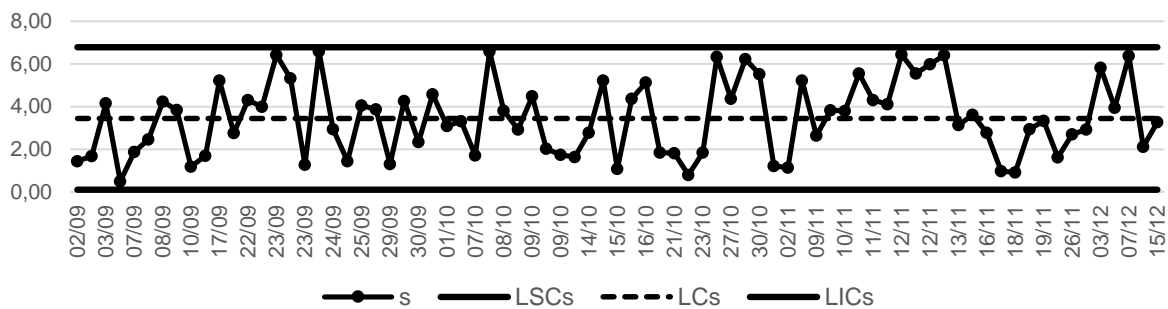
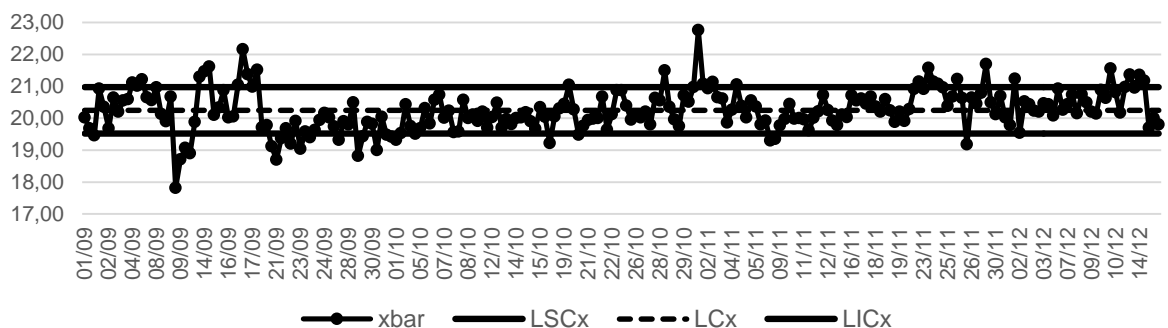


Figura A.6.27 - Carta de controle final da média de humidade relativa na sala de enchimento.

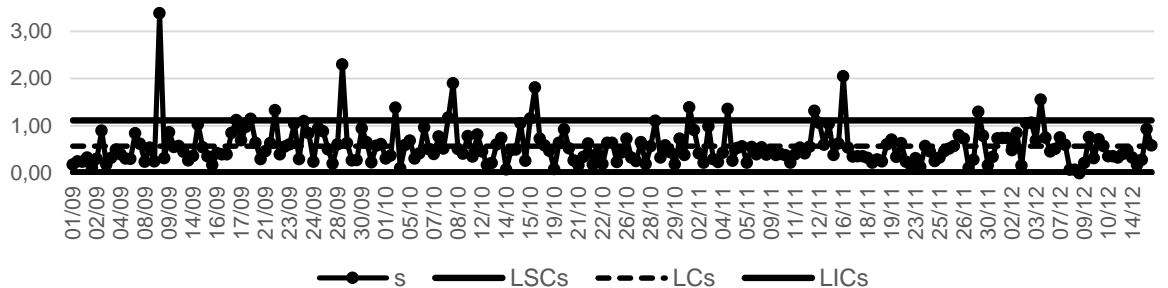


**Figura A.6.28 - Carta de controle final do desvio padrão de humidade relativa na sala de enchimento.**

### Sala de Enchimento - Temperatura (°C)



**Figura A.6.29 - Carta de controle inicial da média de temperatura na sala de enchimento.**



**Figura A.6.30 - Carta de controle inicial do desvio padrão de temperatura na sala de enchimento.**

